

THESIS

GIESSEN

1967

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. H. D. Cremer

**Über die vitaminwirksamen Analogen der
Vitamine A, B₁, B₆, Biotin und C**
**Ein Beitrag zur Frage der Beziehung
zwischen Struktur und Wirkung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität
Giessen

eingereicht von
Ursula Maier, geb. Bödeker
Tierärztin aus Wesel

Giessen 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153519_0001

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. H. D. Cremer

**Über die vitaminwirksamen Analogen der
Vitamine A, B₁, B₆, Biotin und C**
**Ein Beitrag zur Frage der Beziehung
zwischen Struktur und Wirkung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität
Giessen

eingereicht von
Ursula Maier, geb. Bödeker
Tierärztin aus Wesel

Giessen 1967

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität in Gießen

Dekan: Prof. Dr. F. Ulbrich

Berichterstatter: 1. Prof. Dr. H.D. Cremer
2. Prof. Dr. Dr. W. Boguth

Tag der mündlichen Prüfung: 6./7.7.1967

INHALT

Einleitung

1. Die Entwicklung der Kunst

2. Die Kunst der Gegenwart

3. Die Kunst der Zukunft

Meinen Eltern

4. Die Kunst der Gegenwart

5. Die Kunst der Zukunft

6. Die Kunst der Gegenwart

7. Die Kunst der Zukunft

8. Die Kunst der Gegenwart

9. Die Kunst der Zukunft

10. Die Kunst der Gegenwart

11. Die Kunst der Zukunft

12. Die Kunst der Gegenwart

13. Die Kunst der Zukunft

14. Die Kunst der Gegenwart

15. Die Kunst der Zukunft

16. Die Kunst der Gegenwart

17. Die Kunst der Zukunft

18. Die Kunst der Gegenwart

19. Die Kunst der Zukunft

20. Die Kunst der Gegenwart

21. Die Kunst der Zukunft

22. Die Kunst der Gegenwart

23. Die Kunst der Zukunft

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	1
------------	---

Vitamin-A-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil	4
B. Spezieller Teil	5
I. Vitamin-A-Alkohole	5
II. Ester und Äther des Vitamins A	12
III. Vitamin-A-Aldehyde	15
IV. Vitamin-A-Säure	18
V. Anhydrovitamin A und Rehydrovitamin A	22
VI. Der Vitamin-A-ähnliche Faktor in Schmalz	27
VII. Provitamine A	27
C. Zusammenfassung	49
D. Literaturnachweis	53

Vitamin-B₁-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil	67
B. Spezieller Teil	68
I. Änderung der Substituenten des Pyrimidinringes	70
II. Änderung der Methylenbrücke	71
III. Änderung der Substituenten des Thiazolrings und beider Ringsysteme	72
IV. Änderung der Ringsysteme	74
V. Änderung am Thiazolschwefel	74
C. Zusammenfassung	91
D. Literaturnachweis	93

Vitamin-B₆-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil	99
B. Spezieller Teil	100
I. Bedeutung und Änderungen der 4- und 5- ständigen Substituenten	100
II. Änderungen der 2-ständigen Methylgruppe	113
III. Änderungen der 3-ständigen phenolischen Hydroxygruppe	114
IV. Änderungen des heterozyklischen Stick- stoffatoms	115
V. Änderungen der unsubstituierten 6-Stellung	116
VI. Änderung der Raumanordnung	116
C. Zusammenfassung	117
D. Literaturnachweis	120

Biotin-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil	125
B. Spezieller Teil	128
I. Änderungen der sterischen Konfiguration	128
II. Änderungen des Tetrahydrothiophanringes	128
III. Änderungen des 2'-Oxo-imidazolidinringes	136
IV. Änderungen der Seitenkette und Komplex- verbindungen	138
V. Avidin-Bindungsfähigkeit der Biotin- Analoge	141
C. Zusammenfassung	142
D. Literaturnachweis	144

Vitamin-C-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil	148
B. Spezieller Teil	149
I. Änderungen der sterischen Konfiguration	149
II. Änderungen an der Endiol-Gruppierung und anderen Hydroxylen	154
III. Laktonring	160
IV. Änderungen der Seitenkette	161
V. Ascorbigen	162
C. Zusammenfassung	164
D. Literaturnachweis	167
Zusammenfassung	173

EINLEITUNG

Im Laufe der Jahrzehnte hat sich der Vitaminbegriff sehr gewandelt. Auf Grund unserer heutigen Kenntnisse werden unter Vitaminen organische Wirkstoffe oder deren Vorstufen verstanden, die bestimmte heterotrophe Organismen nur aus der Nahrung gewinnen können. In die Definition des Vitaminbegriffs wird auch aufgenommen, daß diese Stoffe (mit Ausnahme der Ascorbinsäure) schon in Tagesmengen von Mikro- bis Milligramm wirksam sind. Die Aufgabe der Vitamine besteht darin, entweder selbst oder in Form von Coenzymen biochemische Reaktionen in Gang zu bringen; damit werden sie für den Stoffwechsel der betreffenden Lebewesen unentbehrlich.

Der größte Teil aller wichtigen biochemischen Reaktionen hängt von Vitamin-Enzymen ab. Darunter werden solche Enzyme verstanden, die erst durch die Verbindung mit der funktionellen Form eines bestimmten Vitamins funktionstüchtig werden. Das Vitamin spielt in diesem System die Rolle einer Wirkgruppe, indem es auf Grund seiner besonderen Struktur Substrate des umgebenden Milieus zunächst bindet und dann verändert.

Als Vitamin-Analoga werden natürlich vorkommende oder synthetisch dargestellte chemische Verbindungen bezeichnet, die den Vitaminen strukturell nahe stehen. Sie lassen sich nach ihrem biologischen Verhalten in vitaminwirksame, biologisch inaktive und antagonistisch wirksame Analoga einteilen. Eingriffe in die Architektur eines Vitaminmoleküls beeinflussen die biologische Wirksamkeit also in sehr verschiedener Weise.

Die antagonistisch wirksamen Analoga gehören neben anderen antagonistischen Verbindungen, bei denen keine strukturelle Verwandtschaft mit dem Vitamin besteht, zur Stoffklasse der Antivitamine. Substanzen der letztgenannten Art von Antivitaminen verhindern die Umwandlung des Vitamins zum Coenzym, indem

sie sein Molekül zerstören oder sich mit ihm zu einem unwirksamen Komplex verbinden. Als Beispiele seien die Thiaminasen genannt, die Thiamin enzymatisch spalten, oder das Avidin des rohen Hühnereiweißes, welches mit Biotin eine derart stabile Verbindung eingeht, daß die Vitaminverwertung unmöglich wird. Dieser Typ von Vitaminantagonisten interessiert aber bei der Beziehung zwischen Struktur und Wirkung nicht. Demgegenüber beruht die Aktivität der antagonistisch wirksamen Analogen allein auf ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit dem Vitamin. Sie ermöglicht ihnen, die Position des Coenzyms durch kompetitive Verdrängung des Vitamins selbst einzunehmen, ohne daß sie aber die mit dieser Stellung verbundenen Aufgaben erfüllen können. So vermag Pyri-thiamindiphosphat als Coenzym der Carboxylase die Decarboxylierung von Brenztraubensäure nicht durchzuführen.

Im Gegensatz zu den antagonistisch wirksamen Analogen behalten die vitaminwirksamen Analogen trotz struktureller Unterschiede zum Ausgangsvitamin die Fähigkeit, die ihnen zugehörigen Enzyme für ihre biochemischen Aufgaben funktionstüchtig zu machen. Je nach der Modifikation, die ihre Molekülstruktur erfahren hat, weisen sie volle oder verminderte Wirksamkeit auf oder sind nur noch imstande, bestimmte Funktionen aus dem Aufgabenbereich ihres Ausgangsvitamins zu erfüllen. Die D-Isoascorbinsäure besitzt keine nennenswerte antiskorbutische Wirksamkeit, aber sie zeigt eine ebenso gute Wirkung wie L-Ascorbinsäure bei der Oxydation von Tyrosin. Gewisse Analoge zeichnen sich sogar durch größere Wirksamkeit aus als das entsprechende Vitamin.

Die biologisch inaktiven Analogen haben solche strukturellen Veränderungen erlitten, daß sie wahrscheinlich keine Verbindung mit den Enzymen mehr eingehen. Schon relativ kleine Abwandlungen der sterischen Konfiguration eines Vitaminmoleküls können seine Wirksamkeit völlig vernichten. Biotinenzyme benötigen allein das D-konfigurierte Vitamin; alle Stereoisomeren des Biotins, auch wenn sie sich nur in der räumlichen Anordnung eines Atoms unterscheiden, verhalten sich inaktiv.

Über die antagonistisch wirksamen Analogen wurde in Sammelreferaten und Monographien ausführlich berichtet, so daß sie in der folgenden Ausführung nur gelegentlich gestreift werden sollen. Die vorliegende Arbeit gibt eine Übersicht über die vitaminwirksamen Analogen des fettlöslichen Vitamins A und der wasserlöslichen Vitamine B₁, B₆, Biotin und C. Sie berücksichtigt daneben auch deren biologisch inaktiven Derivate. Auf Grund der großen Zahl von Veröffentlichungen konnte im Rahmen dieser Dissertation nur ein Teil der Vitamine mit ihren vitaminwirksamen Analogen bearbeitet werden. Außerdem hat diese Arbeit zur Aufgabe, die Beziehung zu untersuchen, die zwischen der chemischen Konstitution eines Moleküls und seiner biologischen Wirksamkeit besteht.

Vitamin-A-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil

Trotz der Fülle Vitamin A-aktiver Substanzen besteht zwischen der chemischen Konstitution und der biologischen Wirksamkeit des Retinols eine enge Beziehung. Wie in der folgenden Ausführung deutlich werden soll, bewirken schon geringfügige Abwandlungen der Vitamin-Struktur eine Verminderung der biologischen Aktivität (Abb. 1).

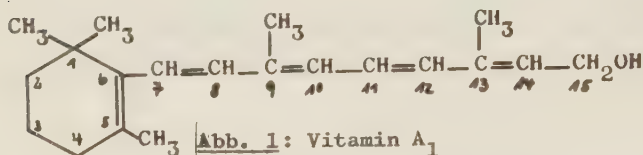


Abb. 1: Vitamin A₁

Aus der biologischen Potenz Vitamin A-verwandter Verbindungen konnten bestimmte Verallgemeinerungen abgeleitet werden. HEJNO (117 a) faßte die Strukturbedingungen, die eine Verbindung mit hoher Vitamin-A-Aktivität erfüllen muß, folgendermaßen zusammen: Sie muß neben einem β-Iononring eine Seitenkette mit mindestens 9 C-Atomen und in 9- und 13-Stellung angehängten Methylgruppen enthalten. Alle Doppelbindungen der Seitenkette müssen trans-Konfiguration besitzen. Die Funktionsgruppe in 15-Stellung muß eine Hydroxylgruppe sein, die auch verestert oder veräthert sein kann, wenn sich Alkohol oder Säure leicht abspalten lassen; sie kann auch eine Aldehyd- oder Carboxygruppe sein.

Seit der Entdeckung der ersten Vitamin-A-verwandten Verbindungen in den dreißiger Jahren hat sich das Interesse an ihnen nicht verloren. Die immer noch bestehende Unklarheit über den Stoffwechsel des Retinols stimulierte die Suche nach der "aktiven Form" des Vitamins und rückt Vitamin-A-verwandte Substanzen in den Mittelpunkt des Studiums.

B. Spezieller Teil

I. Vitamin A Alkohole

Bei vergleichenden spektroskopischen Untersuchungen fiel in den Leberölen der Süßwasserfische gegenüber denen der Seefische eine bei höherer Wellenlänge absorbierende Begleitsubstanz des Vitamins A auf (52, 188, 189). Dieses "693 m μ Chromogen", das HEILBRON u. M. (109) schon früher beschrieben hatten, erhielt 1937 von EDISEBURY u. M. (52) den Namen Vitamin A₂. Über die Struktur der neuen Verbindung herrschte fast 15 Jahre lang Unsicherheit. GILLAM u. M. (78) hielten sie für ein Homologes des Vitamins A mit 22 C-Atomen und einer weiteren konjugierten Doppelbindung in der Seitenkette. GRAY u. M. (98, 99) gelangten ebenso wie MORTON u. M. (233) zu der Ansicht, daß die Zahl der C-Atome gleich ist, daß Vitamin A₂ jedoch eine Doppelbindung mehr besitzt und so ein Dehydrovitamin A₁ darstellt. KARRER u. M. (142, 145, 161) schlugen für Vitamin A₂ eine vom Lycopon abgeleitete offenkettige Struktur vor, die sie aber 1950 für unrichtig erklärten (163). MEUNIER u. M. (212, 216) unterstützten die Formel der offenen Kette. Sie erhielten durch Oxydation des Lycopons eine als Vitamin-A₂-Aldehyd charakterisierte Substanz, die die gleiche biologische Aktivität wie Vitamin A₂ besitzen sollte. FIESER (70) sprach sich auf Grund spektroskopischer Untersuchungen für die MORTONSCHE Formel aus. Den Beweis ihrer Richtigkeit erbrachten FARRAR u. M. (66, 67) durch Synthese des 3-Dehydroretinols, das mit der natürlichen Verbindung identisch war (Abb. 2).

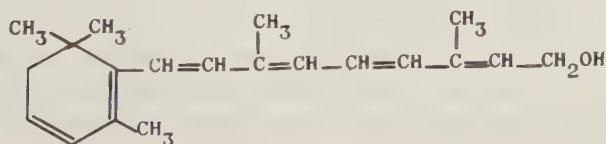


Abb. 2: Vitamin A₂

Die Bezeichnung 3-Dehydroretinol stammt von COURTOIS (36) und wurde 1960 (35) definitiv angenommen.

Auch über den Grad der biologischen Aktivität des Vitamins A_2 für Tiere herrschte lange Zeit Unstimmigkeit. GILLAM u. M. (78) schrieben dem Vitamin A_2 eine beträchtliche biologische Wirkung zu. GILLAM (76) entdeckte Vitamin- A_2 -Speicher in der Leber von Ratten, die diese Verbindung oral erhalten hatten. LEDERER u. M. (187) wiesen nach, daß Ratten und Frösche Vitamin A_2 in ihren Lebern speichern konnten, bestimmten aber nicht seine biologische Aktivität. Während LOVERN u. M. (192) auf Grund ihrer Untersuchungen über die relative Verteilung der beiden Vitamine in Fischen und Seevögeln annahmen, daß Vitamin A_2 das Vitamin A_1 nicht in allen Funktionen ersetzen könne, beobachtete ROSANOVA (265), daß Vitamin A_2 sowohl eine wachstumsfördernde Wirkung auf Ratten ausübte als auch eine Rolle bei ihrem Sehvorgang spielte. Nachdem KARRER u. M. (145) dem Vitamin A_2 zunächst überhaupt keine Vitamin-Aktivität zugesprochen hatten, berichteten sie in einer späteren Veröffentlichung (143), daß Vitamin A_2 1/10 der wachstumsfördernden Wirkung des Vitamins A_1 besitze. Sie erklärten diese Aktivität mit der Fähigkeit der Tiere, kleine Mengen Vitamin A_2 in Vitamin A_1 umzuwandeln. Auch JENSEN u. M. (133) schrieben der neuen Verbindung nur geringe Vitamin-A-Wirksamkeit zu. SHANTZ u. M. (277) wiesen nach, daß Vitamin A_2 nicht in vivo in Vitamin A_1 umgewandelt wird, wie KARRER u. M. (143) noch angenommen hatten. Ratten, die Vitamin A_2 erhalten hatten, enthielten in ihren Retinae statt des Sehpigmentes Rhodopsin das aus Vitamin- A_2 -Aldehyd (Dehydroretinal) und Protein gebildete Porphyropsin, und die Verfasser schlossen daraus, daß Vitamin A_2 das Retinol in allen physiologischen Funktionen ersetzen könne. MILLARD u. M. (222) zeigten, daß Vitamin A_2 auch im menschlichen Sehpurpur seine Wirkung ausübt.

Nachdem SHANTZ das Vitamin A_2 in reiner Form aus Hechtleber isolieren konnte und das kristalline Vitamin-A-Acetat als stabile Lösung zur Verfügung stand (U.S.P. Standard) wurde eine genauere

Bestimmung der biologischen Potenz des Dehydroretinols möglich (273). SHANTZ u. M. (275) zeigten, daß reines natürliches Vitamin A_2 im Wachstumstest an Ratten ungefähr 40 % der biologischen Wirksamkeit einer gleichen Gewichtsmenge Vitamin A_1 besitzt, in etwas geringerem Grad als Vitamin A_1 gespeichert und anscheinend nicht in Vitamin A_1 umgewandelt wird. Wie FARRAR u. M. (66) berichteten, weist synthetisches Vitamin A_2 nur 30 % der Retinolaktivität auf, was im Hinblick auf die chemische Identität überrascht. Da Retinal fast die gleiche biologische Wirksamkeit besitzt wie Retinol (299), bestimmten SUNDARESAN u. M. (283) mit dem Gedanken, daß bei Dehydroretinol und seinem Aldehyd analoge Verhältnisse vorliegen, die biologische Aktivität des Dehydroretinals. Sie erhielten für die biologische Wirksamkeit des Vitamin- A_2 -Aldehyds einen Wert von 33 % der des kristallinen Retinals, was in Einklang steht mit den Ergebnissen von FARRAR u. M. (66) und SHANTZ u. M. (275). WEISER (298) stellte im Vaginalabstrichtest mit Ratten sogar 50 % der Retinolwirkung bei Vitamin A_2 fest.

Es ist heute allgemein anerkannt, daß Dehydroretinol wenigstens teilweise als Stellvertreter des Vitamins A_1 bei Ratten wirken kann (26), und es gibt keinen Zweifel über seine biologische Wirksamkeit bei allen Tierspecies, in denen es natürlich vorkommt (1, 10, 34, 192, 229, 302).

Die Entdeckung des ersten Provitamins A_2 von BUDOWSKI u. M. (23) warf ein Licht auf den Ursprung des Vitamins A_2 , der bis dahin völlig im Dunkeln lag, wengleich MORTON u. M. (230) in einer älteren Arbeit berichteten, daß bestimmte Süßwasserfische auch das β -Carotin als Vitamin- A_2 -Vorläufer verwenden können.

In der Reihe biologisch wirksamer Vitamin-A-Alkohole sind einige stereoisomere Verbindungen zu nennen. Auf Grund theoretischer Überlegungen von PAULING (244) wird dem Retinol allgemein die all-trans-Konfiguration zugeschrieben, doch macht die Anwesenheit von 5 konjugierten Doppelbindungen im Molekül mehrere cis-

trans-Isomere möglich.

ROBESON u. M. (262) isolierten 1947 aus retinolhaltigen Fischleberölen und etwas später auch aus Proben synthetischen Vitamins A₁ (28) das 13-cis, 7, 9, 11-trans-Isomere und gaben der neuen Raumform den Namen Neovitamin A. In der Fischleber fand sich das Neoretinol neben Retinol in einem Verhältnis von 35:65; in der Rattenleber überwog das all-trans-Isomere mit 85:15. Während ROBESON u. M. (262) dem 13-cis-Isomeren die gleiche biologische Potenz wie der all-trans-Form zuschrieben, zeigten JAMES u. M. (4, 108) im Rattenwachstumstest und Leberspeicherungstest, daß durch die Konfigurationsänderung im Molekül die Aktivität um 20-28 % sinkt. Aus ihren Untersuchungen ergab sich, daß die Ratte zur Umwandlung von Neovitamin A zu Vitamin A fähig ist und anscheinend eine konstante Mischung beider Isomeren speichert, unabhängig davon, welches Isomere verfüttert wurde. Von CLARKE u. M. (33) wurde die relative Wirksamkeit von Neovitamin A im Kolpokeratosetest an Ratten mit 68 % bestimmt. BRUEGGEMANN u. M. (22) ermittelten im Leberspeicherungstest mit Ratten 66 % der Retinolwirksamkeit, dagegen konnten sie im gleichen Test für Kücken nur eine Aktivität von 50 % feststellen. Auch sie berichteten, daß oral verabreichtes Neovitamin A zum überwiegenden Teil in der Leber in all-trans-Retinol umgelagert wird, bis nach einigen Tagen ein Gleichgewichtszustand zwischen beiden Isomeren erreicht ist.

WALD u. M. (124, 296, 297) isolierten als erste aus den Augen von CRUSTACEEN das Neo-b-Isomere des Vitamins A und seines Aldehyds, in dem sie zuerst irrtümllicherweise eine 7-cis-Verbindung vermuteten (295). Wenig später korrigierten sie ihre Auffassung über die Raumanordnung und wiesen nach, daß Neo-b-Vitamin A mit dem 11-cis-Isomeren identisch ist (21, 121). Damit widerlegten sie die Ansicht von ROBESON u. M. (263), daß Neo-b-Vitamin A das 11, 13-dicis-Isomere darstellt. Unter den geometrischen Isomeren des Retinols und Retinals nimmt das Neo-b-Isomere eine Schlüsselstellung als direkter Vorläufer des Rhodopsins und

Iodopsins ein, indem, wie HUBBARD u. M. (122, 124) zeigten, auch all-trans-Retinal vor seiner Synthese zum Sehpigment teilweise enzymatisch, teilweise durch Licht zur 11-cis-Form isomerisiert wird. Die Untersuchungen von CHATZINOFF u. M. (29 a) machten es sehr wahrscheinlich, daß das Neo-b-Isomere für die Lebensfähigkeit und das normale Funktionieren der Retinastäbchen essentiell ist. Subminimale Dosen von 11-cis-Vitamin A konnten die Retina neugeborener Ratten schützen, aber nicht die anderen Schäden des Vitamin-A-Mangels verhüten.

Die Anwesenheit von Neo-b-Vitamin A in Crustaceen, die einen Teil des Futters gewerbsmäßig gefangener Fische darstellen, veranlaßte PLACK (248) zum Studium der Umwandlung von 11-cis in all-trans Vitamin A. Von einer 2 mg Dosis des Neo-b-Retinols wurden 25 % der gleichen Dosis all-trans-Retinol in der Rattenleber gespeichert, wobei 80-90 % des Vitamin-A-Speichers auf die all-trans-Form entfielen und nur 10 % auf das Isomere. PLACK wies darauf hin, daß diese relativ geringe biologische Aktivität nicht für alle Tierspecies zutreffen muß, da z.B. der Wal, der wahrscheinlich den größten Teil des Vitamins A in Form des 11-cis-Isomeren aufnimmt, besser als die Ratte an die Nutzbarmachung dieser Form angepaßt ist. Nach seiner Meinung ist die biologische Wirksamkeit des Neo-b-Vitamins A bei der Ratte auf dessen überwiegende Isomerisierung in die all-trans-Form, die im Darm und anderen Geweben stattfindet, zurückzuführen. Auch STAINER u. M. (279) beobachteten nach oraler Verabreichung des 11-cis-Isomeren an Ratten in deren Magen und Darm lebhaftere Umwandlung zu all-trans-Retinol. Trotzdem wurde auch die cis-Verbindung absorbiert und machte 5 Stunden nach der Dosierung etwa 30 % des gesamten Vitamin-A-Speichers der Leber aus. Die Vitamin-A-Speicherfähigkeit des 11-cis-Isomeren betrug in ihren Versuchen $1/4$ - $1/3$ derjenigen einer gleichen Dosis all-trans-Retinol. Die Autoren konnten nachweisen, daß die verminderte biologische Wirksamkeit nicht auf schlechtere Absorption des Isomeren aus dem Darm zurückzuführen ist.

HUBBARD u. M. (123) berichteten über die Anwesenheit eines weiteren Vitamin-A-Isomeren in einem Konzentrat aus Fischleberöl, das sie in späteren Untersuchungen (124) mit reinen Retinalisomeren aus Synthesen von ROBESON u. M. (263, 264) als ⁺ 9-cis und 9, 13-dicis-Formen des Vitamins A identifizierten und mit den Trivialnamen Iso-a und Iso-b-Vitamin A belegten. Die Identifizierung kam durch die Beobachtung zustande, daß beide Isomeren, Iso-b-Retinal allerdings erst nach seiner Isomerisierung zur Iso-a-Form, mit Opsin das Sehpigment Isorhodopsin bilden, das sich durch sein Absorptionsmaximum von Rhodopsin unterschied. BROWN u. M. (20) bestimmten den Anteil der Iso-a- und Iso-b-Isomeren in den Leberölen von Kabeljau und Haifisch u.a. mit 20 %, den im Rattenleberöl mit 14 %. Sie maßen diesem Befund an Fischleberöl insofern Bedeutung zu, als diese beiden Verbindungen im Rattenwachstumstest von AMES u. M. (3, 4) nur 1/4 der wachstumsfördernden Wirkung des all-trans-Vitamins zeigten. Der Ursprung der Iso-a und Iso-b-Isomeren ist ungewiß. AMES u. M. (3) hielten eine in-vivo-Isomerisierung von all-trans oder Neovitamin A für möglich.

1949 berichteten SCHWARZKOPF u. M. (271) über die Synthese eines weiteren isomeren Vitamin-A-Alkohols, des Vitamins A₃ (Abb. 3), mit folgender Formel (117)

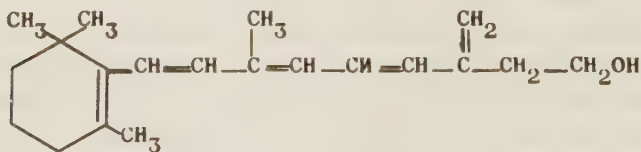


Abb. 3: Vitamin A₃

⁺) entspricht dem Nummerierungssystem von WALD et al. (295). Beide Verbindungen sind identisch mit dem 6-cis und 2, 6-dicis-Isomeren nach der Zählweise von Chem. Abstr. 50 (1956) 2541 s.

Während ISLER (129) der neuen Verbindung in seinem Übersichtsreferat beachtliche Wachstumswirkung zuschrieb, betonte BAXTER (14) den bemerkenswerten Abfall der biologischen Aktivität, der der geringfügiger Strukturänderung folgt, und HEJMO (114) bezeichnete sie sogar als beinahe unwirksam.

MILAS (218) synthetisierte das Dimethylamino-Vitamin A, das sich vom Retinol im Ersatz der endständigen Hydroxygruppe durch die Dimethylamino-Gruppe unterscheidet. Die biologische Aktivität soll beachtlich sein (129, 218) (Abb. 4).

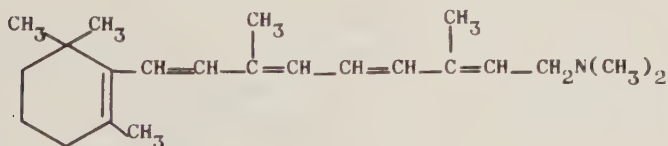


Abb. 4: Dimethylamino-Vitamin A

CHEESEMAM u. M. (31) veröffentlichten einen Bericht über die Darstellung des Vitamin-A-verwandten C_{17} -Alkohols, des Carbinols, in dessen Seitenkette eine Äthylen- durch eine Acetylenbindung ersetzt wurde (Abb. 5). Die Wachstumswirkung bei Vitamin-A-verarmten Ratten betrug 1/1000 der des Retinols.

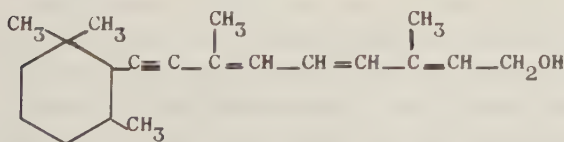


Abb. 5: Carbinol

KARRER u. M. (158) konnten ebenso wie VAN EEKELEN u. M. (53) aus Leberöl-Vitamin-A-Konzentrat eine anders absorbierende Fraktion abtrennen, die im Rattentest Wachstumswirkung aufwies und als Hepaxanthin bezeichnet wurde (65). KARRER u. M. (147) erbrachten den Nachweis, daß Hepaxanthin das Vitamin-A-epoxyd darstellte und ermittelten für seine biologische Aktivität einen Wert von $1/20$ bis $1/25$ der des Retinols. MEUNIER u. M. (214) erhielten durch Oxydation des Vitamins A mit Kaliumpermanganat ein 560 m μ Chromogen mit der gleichen Wirksamkeit. Über den Ort der Sauerstoffanlagerung besteht bisher noch keine Klarheit (151, 153) (Abb. 6).

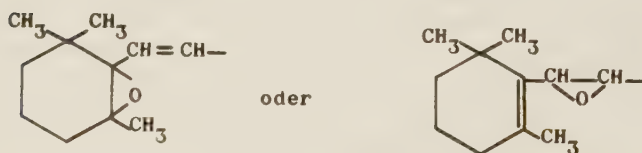


Abb. 6: Sauerstoffanlagerung im Hepaxanthin-Molekül

II. Ester und Äther des Vitamins A

Als primärer Alkohol ist das Retinol in der Lage, Ester und Äther zu bilden. Aus hochgereinigten Vitamin-A-Alkohol-Präparaten stellten KARRER u. M. (159) die ersten öligen Ester, nämlich Vitamin-A-Acetat und p-Nitrobenzoat, dar. In den folgenden Jahren entstanden immer wieder neue und vor allem kristallisierte Esterverbindungen: das Benzoat (110), Naphthoat und Anthrachinon- β -carboxylat (105), Palmitat (260), Succinat (261), Phenylbenzoat (262), Butyrat, Laurat, Stereat und Oleat (132).

In Fischleberölen liegt ein hoher Prozentsatz des Vitamins A in veresterter Form -zumeist als Palmitat- vor (166, 258, 259, 286), und auch in anderen Körpergeweben stellen die Ester des Vitamins A mit höheren Fettsäuren die Speicherform des Retinols dar (137, 195).

ISLER (129) schrieb den Vitamin-A-Estern ebenso wie BAXTER (14, 261) die gleiche biologische Wirksamkeit zu wie dem Retinol. Auch BRAUDE u. M. (19) erzeugten bei Ratten und Schweinen mit Vitamin-A-Ester die gleiche Wachstumswirkung wie mit Vitamin-A-Alkohol. Diese Befunde lassen sich im Hinblick auf das Schicksal der Ester im Darm leicht verstehen. Neueste Untersuchungen über die Absorptionsweise von Retinolestern sowohl in vivo an Ratten (197) als auch in vitro an isoliertem Rattendarm (196, 198) haben ergeben, daß Vitamin-A-Ester während der Absorption hydrolysiert werden, als Alkohol die Mukosazellmembran passieren und in der Zelle erneut verestert werden.-Nach POGGI u. M. (253 a) wird das an sich fettlösliche Vitamin A durch Umsetzung mit Inositolhexaphosphat wasserlöslich. Diese kristallisierte untoxische Verbindung soll über 15 Monate Vitamin-A-wirksam gewesen sein; ein Zahlenwert über die biologische Aktivität dieses wasserlöslichen Esters war nicht angegeben.

1939 veröffentlichten KIPPING u. M. (174) als erste einen Bericht über die Synthese von Vitamin-A-Methyläther. Jedoch müssen ihre Angaben mit Vorbehalt aufgenommen werden, da die Verfasser keine experimentellen Einzelheiten, Analysen oder biologische Daten mitgeteilt haben. 1945 berichtete OROSHNIK (241) erneut über eine Darstellung des Methyläthers und erkannte seine biologische Aktivität (242). HANZE u. M. (106) schrieben ihm auch eine hohe biologische Potenz von 3.500 000 U.S.P. XII Einheiten/Gramm zu, und ISLER u. M. (130-132) hielten ihn für beinahe ebenso aktiv wie den Alkohol. MILAS u. M. (221) gelang neben der Synthese von Vitamin-A-Methyläther auch die Reindarstellung des Äthyläthers und der entsprechenden Dehydrovitamin-A-Derivate; dagegen konnten sie den Isopropyl- und Butyläther des Vitamins nur

in viel weniger reinem Zustand gewinnen. Alle Verbindungen erwiesen sich im biologischen Versuch an der Ratte als aktiv. ISLER u. M. (132) stellten den Phenyläther des Retinols dar und bestimmten seine Aktivität mit 1/10 der des Vitamin-A-Alkohols. Im Gegensatz zu der gleichen Wirksamkeit der verschiedenen Ester zeigten die Äther also Unterschiede in ihrer biologischen Wirksamkeit. Während in den Versuchen von ISLER u. M. (129) der leicht spaltbare Methyläther beinahe voll wirksam war, besaß der schwer spaltbare Phenyläther nur geringe Wirksamkeit. Der Verfasser sah es als wahrscheinlich an, daß der Methyläther im Organismus umgeformt und als Retinolester in der Leber gespeichert wird. MILAS u. M. (220) synthetisierten den Homovitamin-A-äthyläther (Abb. 7), dessen Kohlenstoffgerüst sich von dem des Retinols durch eine zusätzliche Methylengruppe unterscheidet, und den Dehydrohomovitamin-A-äthyläther (Abb. 8), der sich durch eine Dreifachbindung in der Seitenkette auszeichnet. Beide Verbindungen heilten die Xerophthalmie von Vitamin-A-Mangelratten und sorgten für Fortsetzung des Wachstums.

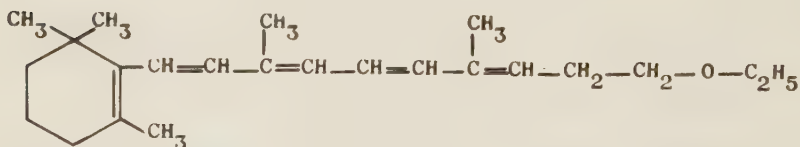


Abb. 7: Homovitamin-A-Äthyläther

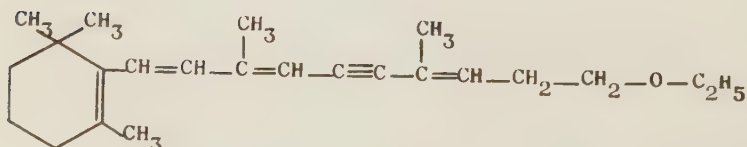


Abb. 8: Dehydrohomovitamin-A-Äthyläther

Aus dem Laboratorium von HEILERON (30) stammt der Norvitamin-A-Methyläther, dem die Methylgruppe in 3-Stellung der Polyenkette fehlt. Im biologischen Versuch an der Ratte besaß diese Substanz 1/30 der wachstumsfördernden Eigenschaft des Retinols.

GUÉX gelang die Reindarstellung des Tetrahydropyranyläthers (104), der als maskiertes Acetal aufgefaßt werden kann. ISLER (129) fand diese Verbindung voll Vitamin-A-wirksam.

III. Vitamin-A-Aldehyde

1944 identifizierten MORTON u. M. (231) die nicht proteinartige prosthetische Gruppe des Sehpigmentes Rhodopsin, das Retinen₁⁺, als Vitamin-A₁-Aldehyd (Abb. 9).

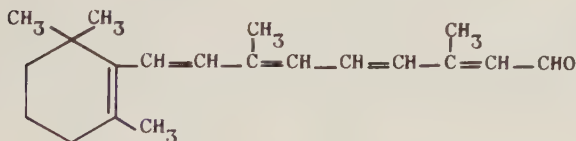


Abb. 9: Retinal

4 Jahre später erhielten BALL u. M. (11) kristallinen Vitamin-A₁-Aldehyd durch Oxydation des Vitamins A₁ mit Mangandioxyd. In ähnlicher Weise wurde gezeigt, daß⁺ Retinen₂ den Aldehyd des Vitamins A₂ (Abb. 10) darstellt (233, 293), und auch dieser konnte in kristalliner Form gewonnen werden (27, 66). WALD isolierte das Retinen₁ erstmals aus der Netzhaut von Rana pipiens und Rana esculenta (291). Mehr als 20 Jahre später erbrachten FLACK u. M. (251 - 253) den Nachweis, daß Retinen₁ auch außer-

⁺) nach Beschluß der Commission on the Nomenclature of Biological Chemistry (J. am. chem. Soc. 62 (1960) 5575): Retinal und Dehydroretinal

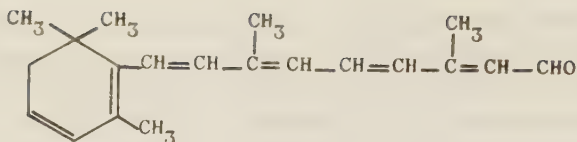


Abb. 10: Dehydroretinal

halb des Auges, nämlich in den Eiern verschiedener Meeresfische vorkommt, und in weiteren Arbeiten gelang es ihnen, die Anwesenheit von Aldehyd in Hühnereiern, Ochsenlebern und Kuhmilch aufzudecken (249, 250). POLLARD u. M. (255) fanden den Aldehyd in Frosch- und Fischeiern, SCHARPENSEEL u. M. (269) in Nebenniere und Leber der Ratte, und WINTERSTEIN u. M. (303) demonstrierten seine weite Verbreitung im Pflanzenreich (Spinat, Klee, Grünkohl, Gras, Hagebutten). Als natürliche Quelle des Retinens₂ ist nur die Netzhaut bestimmter Süßwasserfische (*Morone americana*, *Perca flavescens*, *Esox reticulata*) bekannt, wo WALD (292) es 1937 als Komponente des Porphyropsinsystems entdeckte.

Während WENDLER u. M. (299) ebenso wie ISLER (129) für Retinal im Rattenwachstumstest die gleiche biologische Aktivität wie für Retinol feststellten, konnten AMES u. M. (3) nur 91 % der biologischen Wirksamkeit von Retinol ermitteln. Wie schon erwähnt bestimmten CARR u. M. (26) die biologische Wirksamkeit des Dehydroretinals mit 33 % der Wachstumsaktivität des Retinols im gleichen Test, und WEISER (298) fand im Vaginalabstrichstest mit Ratten 50 % der Retinolwirksamkeit. GLOVER u. M. (81) untersuchten das Schicksal von Retinal in anderen Körpergeweben als der Retina. Ihre Ergebnisse zeigten an, daß der oral verabreichte Vitamin-A₁-Aldehyd sofort bei seiner Absorption in der intestinalen Mukosa zu Alkohol reduziert und danach zum überwiegenden Teil verestert zur Leber weitertransportiert wurde. In dem Befund, daß auch nach subkutaner Verabreichung des Retinals Vitamin A₁ in der Leber gefunden wurde und die Injektions-

stelle nur Vitamin A₁ und keine Spur des Aldehyds enthielt, sahen die Verfasser einen Beweis für die Anwesenheit eines Aldehyd-reduzierenden Enzyms im subkutanen Gewebe. SUNDARESAN u. M. (283) verfütterten Retinen₂ an carotinoid- und Vitamin-A-frei ernährte Ratten und konnten innerhalb von 24 Stunden Vitamin A₂ in der Leber nachweisen. Da über den Stoffwechsel des Vitamins A bis heute nur Vermutungen geäußert wurden, stehen eine Reihe von Vitamin-A-Verbindungen unter dem Verdacht, Zwischenprodukte des Abbauweges zu sein. Untersuchungen von GLOVER (80) deuteten darauf hin, daß Vitamin-A-Aldehyd ebenso wie Vitamin A selbst (308) im Stoffwechsel zu wasserlöslichen Abbauprodukten und CO₂ verarbeitet wird. Diese Ergebnisse unterstützten die MOORE'SCHE Theorie (227) über einen wichtigen oxydativen Weg im Vitamin-A-Stoffwechsel. FUTTERMAN (71) legte dar, daß der in der Leber gefundene Aldehyd (303) durchaus als frühes Zwischenprodukt des von MOORE vorgeschlagenen Weges angesehen werden könne.

GRANGAUD u. M. (88) synthetisierten aus Astaxanthin-Ester den Ester des 3-Hydroxy-4-ketoretinals (Abb. 11).

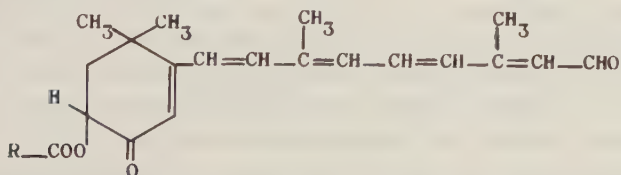


Abb. 11: 3-Hydroxy-4-ketoretinal-ester

Diese Verbindung heilte sehr eindrucksvoll die Xerophthalmie von Vitamin A-Mangelratten; dagegen hatte sie keinen Einfluß auf die Überlebenszeit und das Gewicht der Versuchstiere, die alle ungefähr 75 Tage nach Entzug von Vitamin A starben (89).

Bei ihrer Arbeit mit Vitamin-A-Säure erhielten ARENS u. M. (5) als Umwandlungsprodukt das C₂₁-Keton (Abb. 12). Im biologischen

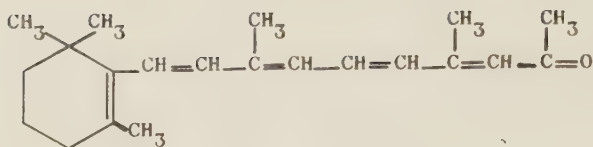


Abb. 12: C₂₁-Keton

Test mit Ratten besaß das gelbe Öl 1/10 der Retinolwirksamkeit.

IV. Vitamin-A-Säure

1946 erhielten ARENS u. M. (5, 8) als Zwischenprodukt ihrer Vitamin-A-Synthese die dem primären Alkohol des Vitamins entsprechende Carboxysäure: Retinsäure. Als sie durch orale Verabreichung der neuen Substanz an Vitamin A-Mangelratten eine Heilung ihrer Mangelsymptome erreichten, erklärten sie diese Aktivität als Ergebnis einer Reduktion der Säure zu Alkohol im Organismus (6). In späteren Experimenten (7) konnten sie aber ebensowenig wie SHARMAN (278) weder eine Spur von Alkohol noch von Säure nach oraler oder subkutaner Applikation der Vitamin-A-Säure in den Geweben der Ratte entdecken. Sie nahmen daher an, daß Vitamin-A-Säure entweder per se oder nach Umwandlung in eine aktive Verbindung wirkt, die nicht Vitamin-A-Alkohol ist (7, 46, 47, 49, 257, 278). MOORE (225) folgerte aus diesen Befunden, daß der Organismus die Retinsäure in seiner Unfähigkeit, sie zu reduzieren, nicht im Sehzyklus verwenden könne, da dieser auf das Angebot von Alkohol oder Aldehyd angewiesen sei (294). Diese These wurde von DOWLING u. M. (48) bestätigt. Sie erzeugten mit Vitamin-A-freiem und Retinsäure-angereichertem Futter bei säugenden Ratten hochgradige Nachtblindheit, während die Tiere weiter wuchsen und auch sonst in ausgezeichneter Kondition blieben.

THOMPSON u. M. (284) zeigten, daß Retinsäure auch die Fortpflanzungsfähigkeit weiblicher Ratten nicht erhalten kann, wenn sie die einzig verfügbare Form des Vitamins A darstellt. Die Verfasser wiesen auf die Ähnlichkeit des Verhaltens von Plazenta und Retina hin. Vitamin-A-Säure erzeugte bei Ratten in einer viel geringeren Dosis und in sehr viel kürzerer Zeit als Vitamin A die typischen Symptome einer A-Hypervitaminose (Wachstumsstillstand, Blutungen aus den Augen und der Nase, Knochenrarefizierung) (46, 285).

Versuche, die biologische Potenz der Retinsäure zu messen, haben sehr verschiedene Ergebnisse hervorgebracht. VAN DORP u. M. (45) maßen ihr im Wachstumstest mit Ratten $1/10$ der Wirksamkeit des Retinols zu. Nach ISLERS (129) Ergebnissen besitzt sie $2/3$ der Vitamin-A-Wirksamkeit. BOGUTH u. M. (18) fanden Vitamin-A-Acetat und Retinsäure bei der Beseitigung hormonell erzeugter Kolpokeratose gleichwertig. Dagegen gab MURRAY (234) für die biologische Aktivität der Säure -gemessen im Vaginalabstrichstest- nur 8 % derjenigen des Retinols an. MALATHI u. M. (199) verglichen die Wirksamkeit von Vitamin-A-Acetat und Retinsäure auf das Wachstum von Ratten bei oraler und peritonealer Applikation. Nach oraler Gabe zeigte die Säure eine nur halb so große biologische Aktivität wie die des Acetates. Wenn beide Substanzen intraperitoneal verabreicht wurden, wirkte die Säure 1.4 mal so aktiv wie das Acetat. Die Verfasser versuchten das geringere Wachstum der Tiere nach oral verabreichter Säure mit einer weniger guten Absorption dieser Verbindung aus dem Gastrointestinaltrakt zu erklären. DE MAN u. M. (200) konnten im Wachstumstest mit Kücken keinen Unterschied zwischen der Wirksamkeit von Vitamin-A-Acetat und Vitamin-A-Säure finden.

Es scheint nach diesen Experimenten, daß die Vitamin-A-Säure die biologischen Funktionen des Retinols mit Ausnahme derjenigen im Sehzyklus und in der Schwangerschaft durchaus erfüllen kann. Doch unterscheidet sie sich von Vitamin A darin, daß sie keine Vitamin-A-Speicher in der Leber und in anderen Geweben anlegen kann und auch selbst nicht im Organismus zu entdecken ist (7, 47, 49, 200, 234, 257, 278). Allerdings gelang es JURKOWITZ (136) in

jüngerer Zeit, Retinsäure nach oraler Applikation massiver Dosen im menschlichen Serum nachzuweisen, und KRISHNAMURTHY u. M. (177) fanden sie im Kückengewebe bis zu 18 Stunden nach der Verabreichung großer Mengen per os. Die Konsequenz, die sich aus dem Fehlen der Speicherung ergibt, ist die, daß die Tiere auf eine Unterbrechung der Vitamin-A-Säure-Zufuhr innerhalb einer Woche mit Gewichtsabfall und anderen Mangelsymptomen reagieren, und in drei bis vier Wochen sterben (48). REDFEARN (257) bestätigte diese Beobachtung, fügte aber hinzu, daß Retinsäure-Methylester teilweise dem Abbau entging und in den Fettdepots gespeichert wurde. Dementsprechend waren die Tiere ziemlich lange nach dem Absetzen der Dosis befähigt, durch Nutzbarmachung des gespeicherten Esters ihr Wachstum fortzusetzen.

Um alle diese Ergebnisse erklären zu können, dachten MOORE (225) und DOWLING u. M. (48) daran, daß Vitamin-A-Säure entweder das "aktive Prinzip" für die Gewebefunktion des Vitamins A sei oder ein Zwischenprodukt zwischen Vitamin A und dem aktiven Prinzip. DOWLING u. M. (46) drückten die Beteiligung der Retinsäure am Stoffwechsel des Vitamins A in folgendem Schema aus (Abb. 13):

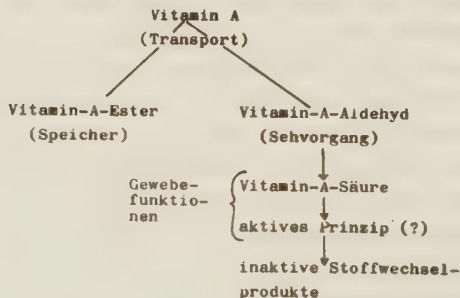


Abb. 13: Schema über die Beteiligung der Retinsäure am Stoffwechsel des Vitamin A (46)

Vitamin A wird als Ester in den Geweben gespeichert und als freier Alkohol transportiert. Er kann reversibel zu Vitamin-A-Aldehyd oxydiert werden, um das Sehpigment zu bilden. Der Aldehyd scheint irreversibel oxydiert zu werden zur Säure, die entweder als aktives Prinzip dienen oder in das aktive Prinzip umgewandelt werden kann, wobei das Fehlen einer Vitamin-A-Säure-Speicherung in den Geweben die letztere Hypothese begünstigt. Einige Experimente lieferten den Beweis für die Möglichkeit enzymatischer Oxydation von Vitamin-A-Aldehyd zur Vitamin-A-Säure. DMITROVSKIJ (44) berichtete, daß im Jejunum der Ratte durch Aldehydoxydase die Bildung von Vitamin-A-Säure aus dem Aldehyd katalysiert würde. Ebenso zeigten in-vitro-Versuche von FUTTERMAN (71) und ELDER u. M. (54), daß der Aldehyd sich durch Leber-Aldehyddehydrogenase, Leberaldehydoxydase und Milch-Xanthinoxidase zur Säure oxydieren ließ. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch das Vorkommen von Aldehyddehydrogenase in der Retina (173).

Auch der Befund, daß die Retinsäure schneller als das Vitamin selbst eine A-Hypervitaminose produzierte, unterstützte die oben dargelegte Theorie. Nach der Erklärung von THOMPSON u. M. (285) wird bei der Verfütterung von Retinsäure, wenn sie tatsächlich das aktive Prinzip oder ein Zwischenprodukt zwischen Vitamin A und dem aktiven Prinzip darstellt, die normale Kontrolle über die Versorgung des Gewebes mit "aktivem Vitamin A" umgangen.

Als Homologes von Vitamin-A-Säure synthetisierte REDFEARN (257) eine Verbindung mit 25 C-Atomen und berichtete über deren kurative Wirkung bei A-avitaminotischen Ratten. Jedoch fand der Verfasser, daß sich das Homologe, wenn auch nur in einem geringen Prozentsatz (0.3 %) in Vitamin A umwandelte. Es schien ihm deshalb ein Teil der biologischen Wirksamkeit auf diese Umwandlung zurückführbar. Die Weiterverarbeitung der C_{25} -Säure ging im Vergleich zu der der C_{20} -Säure relativ langsam vor sich, da sich gewöhnlich unveränderte Säure in der Leber fand.

Auf der Suche nach dem "aktiven Prinzip" haben DOWLING u. M. (46) die C_{19} - und C_{17} -Säure untersucht, fanden aber bei keiner von beiden biologische Wirksamkeit. Allerdings finden sich in der älteren Literatur noch Angaben von HEILBRON u. M. (110 a u. b) über eine sehr geringe Vitamin-A-Aktivität dieser beiden Verbindungen und der C_{16} -Säure.

PETROW u. M. (246) synthetisierten ein Derivat der Retinsäure durch Einführung einer zweiten Carboxygruppe in 12-Stellung des Moleküls, Carboxy-Vitamin-A-Säure (Abb. 14). Im Wachstumstest mit jungen Vitamin-A-verarmten Ratten wurde deutlich, daß die Strukturabwandlung einen erheblichen Verlust an biologischer Aktivität zur Folge hatte (500 I.E./g) (201).

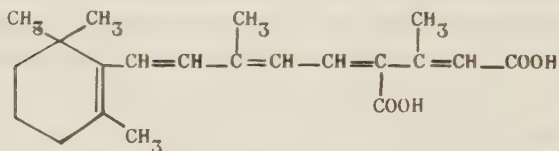


Abb. 14: Carboxyvitamin-A-Säure

V. Anhydrovitamin A und Rehydrovitamin A

Durch die Einwirkung von äthanolischem Chlorwasserstoff auf sämtliche Isomeren des Vitamins A entsteht Anhydrovitamin A. Seine Bildung wurde zuerst von EDISBURY u. M. (51) beobachtet. HEILBRON u. M. (113) hielten es zunächst für ein dizyklisches Hydrocarbon. Spätere Forschungsarbeiten von MEUNIER u. M. (211, 213), von SHANTZ u. M. (276) und von KARRER u. M. (165) zeigten jedoch seine monozyklische Struktur und 6-Doppelbindungen in Konjugation an Stelle der ursprünglichen fünf, so daß seine Entstehung auf einfache Dehydrierung des Vitaminmoleküls zurückgeführt und diese Formel für seinen Bau vorgeschlagen wurde (Abb. 15).

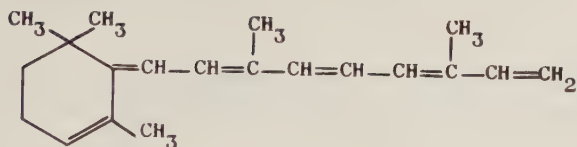


Abb. 15: Anhydrovitamin A₁

Neben den Berichten über die Entstehung von Anhydrovitamin A₁ durch Einwirkung von Mineralsäuren auf Retinol (24, 107, 226) beschrieb MASE (205) eine interessante Bildung des Hydrocarbons durch ultraviolette Bestrahlung von Vitamin-A-Acetat und β -Carotin. EMBREE (56) stellte die Anwesenheit von Anhydrovitamin A₁ in Fischleberölen fest. Im biologischen Versuch an der Ratte fand er zunächst, daß das rohe Anhydrovitamin-A₁-Konzentrat ohne Wachstumswirkung war. Ein späteres Experiment mit dem ersten kristallinen Präparat bewies für das Anhydrovitamin A₁ eine biologische Aktivität von ungefähr 0.4 % derjenigen des kristallinen Retinols (276). Dieses Ergebnis warf die Frage auf, ob Anhydrovitamin A per se physiologische Wirkung besitzt oder ob es im Tierkörper wieder in eine kleine Menge Vitamin A überführt wird. SHANTZ (274) verfütterte kristallines Anhydrovitamin A₁ an Vitamin-A-verarmte Ratten und konnte aus ihren Lebern einen neuen Wachstumsfaktor isolieren, den er als Strukturisomeres von Vitamin A ansah.

Über die Entstehung der Verbindung äußerte der Verfasser die Vermutung, daß der Organismus bei seinem Versuch, Anhydrovitamin A₁ zu verwerten, zwar die Elemente des Wassers zum Molekül hinzufügen könne, aber unfähig sei, die Doppelbindung in die normale Position zu verschieben. Er bestimmte die biologische Aktivität des neuen Wachstumsfaktors mit 1/15 der des Retinols und gab ihm den Namen Rehydrovitamin A₁, wodurch einmal die partielle Rück-

kehr der Verbindung zur normalen Vitamin-A-Struktur und zum anderen zur Aktivität des Vitamins zum Ausdruck kommen sollte.

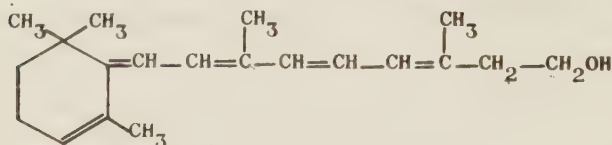


Abb. 16: Rehydrovitamin A₁

1955 gelang es BEUTEL u. M. (16) das Rehydrovitamin A synthetisch darzustellen, und VARMA u. M. (289) isolierten es aus verdorbenen Multivitaminpräparaten zusammen mit Anhydrovitamin A₁. Nach Verfütterung von Rehydrovitamin A₁ an Vitamin-A-verarmte Ratten zeigte sich in der Leber sowohl Vitamin A als auch Rehydrovitamin A. Dieser Befund steht im Gegensatz zu dem von SHANTZ u. M. (274) und bewies, daß der Organismus doch zur totalen Umwandlung des Isomeren in Retinol fähig ist. Die Verfasser schlagen auf Grund dieser engen Beziehung den Namen Retro-Vitamin A vor.

Bei längerer Behandlung von Retinol mit äthanolischer Salzsäure erhielten SHANTZ u. M. (276) das Isoanhydrovitamin A, für welches MEUNIER u. M. (215) folgende Struktur vorschlugen (Abb. 17):

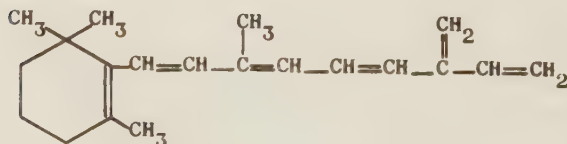


Abb. 17: Isoanhydrovitamin A

Diese neue Substanz soll ungefähr die gleiche biologische Aktivität besitzen wie Anhydrovitamin A₁ (103, 219).

Ein weiteres Isomeres des Anhydrovitamins A₁ wurde von KARRER u. M. (141) synthetisiert, die ihm folgende Strukturformel und dem Namen Axerophthen gaben (Abb. 18).

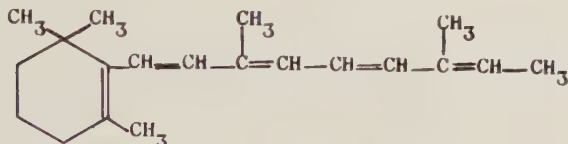


Abb. 18: Axerophthen (141)

Gegen diese Nomenklatur wandten sich MEUNIER u. M. (211), da sie das Anhydrovitamin A₁ selbst schon so benannt hatten (103, 213). KARRERS Axerophthen, von ISLER auch als Desoxyvitamin A bezeichnet (129), besaß im Rattenwachstumstest mindestens 1/5 bis 1/6 der Wirksamkeit von Carotin (60) oder 1/10 der Retinolwirksamkeit (60, 219). Das viel weniger Vitamin-A-aktive Anhydrovitamin A ließ sich in vitro zu Axerophthen reduzieren (165).

Nach dem gleichen Verfahren, wie es bei der Anhydrovitamin-A₁-Synthese angewendet wurde, synthetisierten SHANTZ u. M. (57, 273) aus 3-Dehydroretinol das Anhydrovitamin A₂, bei dem sie sieben Doppelbindungen feststellten. Während SHANTZ der neuen Verbindung gemäß der damals noch bestehenden Unsicherheit über die Struktur von Vitamin A₂ die offenkettige Formel zuwies, schlugen FARRAR u. M. (66, 67) eine Formel mit dem chromophoren System des Anhydrovitamins A₁ vor (Abb. 19). HENBEST u. M. (118) kamen zu der Ansicht, daß das Anhydrovitamin A₂ bei der Synthese mit äthanolischem Chlorwasserstoff die Äthoxyverbindung des An-

hydrovitamins A darstellte bzw. die Methoxyverbindung bei Arbeit mit methanolischem Chlorwasserstoff (Abb. 20).

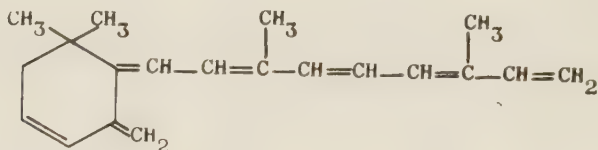


Abb. 19: Anhydrovitamin A₂ (FARRAR)

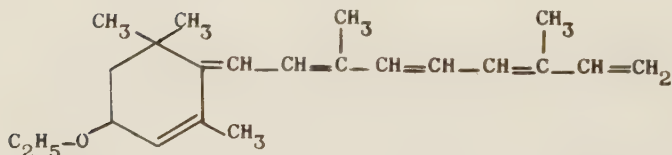


Abb. 20: Anhydrovitamin A₂ (HENBEST)

BALASUNDARAM u. H. (9) konnten mit reinem Anhydrovitamin-A₂-Konzentrat (4'-Äthoxy-Anhydrovitamin A₁) Wachstumsstillstand und xerophthalmische Schäden bei Vitamin-A-verarmte Ratten beheben und aus ihren Lebern eine neue Verbindung Rehydrovitamin-A₂ isolieren, welche sie in Analogie zum Rehydrovitamin A₁ zunächst mit der Strukturformel 4-Äthoxy-Rehydrovitamin A₁ charakterisierten. Eine spätere Arbeit (12) machte es aber wahrscheinlich, daß die Äthoxygruppe im Rehydrovitamin-A₂-Molekül fehlt, was im Hinblick auf die allgemein bekannte Inaktivität von Vitamin-A-Verbindungen mit substituiertem β-Iononring durchaus denkbar erscheint. Die Verfasser sahen den Darm als Ort der Umwandlung von Anhydro- in Rehydrovitamin A₂ an.

BALASUNDARAM u. M. (9) konnten erstmals natürliches Anhydrovitamin A₂ aus dem Leberöl des Süßwasserfisches Wallago attu isolieren.

Zur Bestimmung der Struktur des natürlichen Anhydrovitamins A₂, das möglicherweise keine Äthoxygruppe besitzt, ebenso wie zur Bestimmung der biologischen Potenz war die gewonnene Substanz nicht ausreichend.

VI. Der Vitamin-A-ähnliche Faktor in Schmalz

Ende der vierziger Jahre tauchten in der Literatur Arbeiten auf, die sich mit der Vitamin-A-ähnlichen Aktivität von Schmalz befaßten (190, 208). 1950 destillierten KAUNITZ u. M. (167) einen Faktor aus Schweineschmalz, der Vitamin-A-frei ernährte Ratten vor Mangelsymptomen völlig schützte und den sie als chemisch verschieden von den bekannten Vitamin-A-Formen ansahen. LOWE u. M. (193) bestätigten die Behauptung, daß Schmalz einen Vitamin-A-ersetzenden Faktor enthalte. Sie konnten mit einem Molekulardestillat von Schweineschmalz, in dem weder Vitamin A noch Carotin feststellbar war, in einer Tagesdosis von 0.6 g die Xerophthalmie und den Wachstumsstillstand Vitamin-A-Mangelratten beheben. Wenig später gelang es jedoch KAUNITZ u. M. (119) Vitamin A in der destillierten Fraktion nachzuweisen, womit sich die biologische Aktivität von Schmalz sehr einleuchtend erklärte.

VII. Provitamine A

Die Reihe der Vitamin-A-wirksamen Substanzen findet ihre Fortsetzung in den Provitaminen A. Diese sind Carotinoid-Pigmente (154), die sowohl in vivo als auch in vitro durch vorsichtigen oxydativen Abbau in Vitamin A umgewandelt werden können (127).

Wie bei den Vitamin-A-Analogen ist für die optimale Provitamin-A-Aktivität eines Carotinoids die Anwesenheit mindestens eines unsubstituierten β -Iononringes und einer ungesättigten Seitenkette, die der des Retinols entspricht, erforderlich (116).

Unter den Carotinoiden besitzt β -Carotin die größte Provitamin-

A-Aktivität, so daß es als Standard für den Vergleich mit der biologischen Wirksamkeit anderer Provitamine dient. Abänderungen seines Molekülbaus gleichgültig ob sie durch Oxy-, Hydroxy-, Hydro- oder Dehydro-Verbindungen, Oxyde oder Stereoisomere entstehen, haben wie bei Vitamin A und seinen Analogen Wirkungsverlust zur Folge.

Einen Teil der in Folgenden angeführten Ergebnisse aus biologischen Tests ist leider nur beschränkt vergleichbar, da einmal die verschiedene Reinheit der Präparate, zum anderen die verschiedene Zusammensetzung der Diäten, die für die Resorption von Provitaminen von Bedeutung ist, die Resultate beeinflussen.

1. α -, β - und γ -Carotin

Obwohl das Carotin bereits 1831 von WACKENRODER (290) aus Karotten isoliert worden war, dauerte es fast ein Jahrhundert, bis seine biologische Wirksamkeit erkannt wurde. Während STEENBOCK u. M. (280) 1921 erstmals berichteten, daß Carotin das Wachstum von Ratten förderte, konnten DRUMMOND u. M. (50) 1925 mit viermal umkristallisiertem Carotin keine Wachstumswirkung bei Ratten erzielen, so daß sie ihre Ergebnisse zusammenfaßten: Wir sind überzeugt, daß weder Carotin noch Lycopene Vitamin A ist. 3 Jahre später demonstrierten EULER u. M. (58, 59, 62) die Zuwachswirkung des Carotins an Vitamin-A-frei ernährten Ratten in Tagesdosen von 0.01 - 0.03 mg/Ratte, wobei sie aber noch die Möglichkeit einräumten, daß die Zuwachswirkung ihrer Präparate durch chemisch nicht mehr nachweisbare, biologisch noch wirksame Beimengungen bedingt sei. MOORE (223) zeigte an Vitamin-A-frei ernährten Ratten, deren Leberspeicher an Vitamin A fast auf null gesunken war, daß nach Zufuhr von Carotin der Lebergehalt an Vitamin A wieder anstieg.

1931 konnten KUHN u. M. (183) das gewöhnliche Carotin in drei verschiedene Kohlenwasserstoffe auftrennen: in 15 % α -Carotin, 85 % β -Carotin und 0.1 % γ -Carotin. KARRER u. M. (146, 157, 164) gelang es, die Struktur des β - und α -Carotins aufzuklären; wenig

später ermittelten KUHN u. M. (178) die Konstitution des γ -Carotins (Abb. 21).

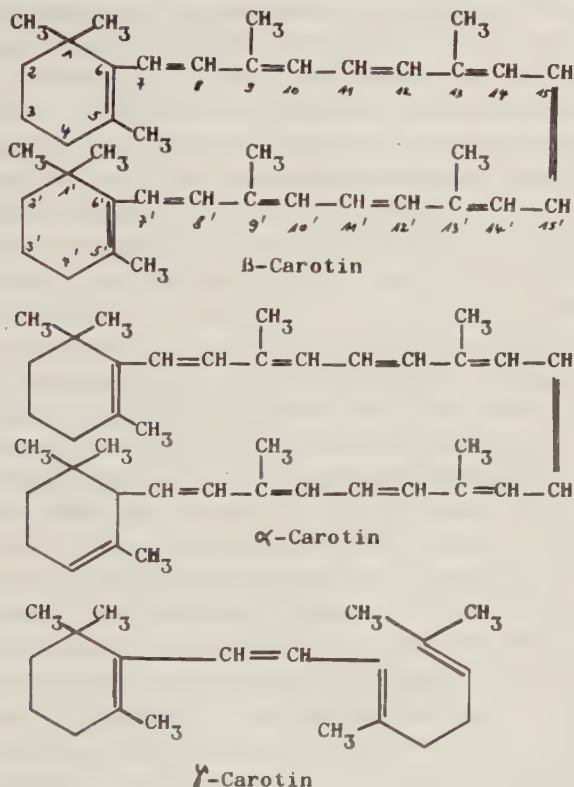


Abb. 21

Während β -Carotin und α -Carotin sich nur in der Lage der 11. Doppelbindung im 2. Iononring unterschieden, trat im Bau des γ -Carotins ein markanterer Unterschied auf: der zweite Kohlenstoffring hatte sich unter Einbau einer 12. Doppelbindung geöffnet. Im Wachstumstest an Ratten konnten KUHN u. M. (179, 180) deutlich machen, daß die drei Carotine bei Vitamin-A-frei ernährten Ratten aktiv waren, daß jedoch quantitative Unterschiede in ihrer Wirksamkeit bestanden. Nach ihren Ergebnissen war das β -Carotin sowohl bei der Wachstumsförderung als auch bei der Speicherung von Vitamin A doppelt so aktiv wie α - und γ -Carotin. Die Minimumdosis für β -Carotin betrug 0.0025 mg,

die für α - und β -Carotin 0.005 mg. Interessanterweise konnten KUHN u. M. (179) auch nach extremer Überdosierung niemals Schäden einer Hypervitaminose beobachten. Sie fanden bedeutende Mengen des Farbstoffes im Kot der Versuchstiere wieder und schlossen daraus, daß sich der Organismus durch begrenzte Resorption vor einem Übermaß an Provitamin schützt. EULER u. M. (65, 144) stellten ebenso wie MOORE (224) die höhere Wachstumswirkung von β -Carotin fest; sie fanden aber nicht die von KUHN berichtete Überlegenheit von 2 : 1 gegenüber den beiden anderen Isomeren. EULER u. M. (65) verfütterten α - und β -Carotin in einer Tagesdosis von 0.75 an Ratten. In 35 Tagen zeigten die mit β -Carotin versorgten Tiere eine durchschnittliche Tagesgewichtszunahme von 0.72 g, die mit α -Carotin gefütterten nur 0.48 g. Das Verhältnis der Biopotenzen würde auf dieser Basis 3 : 2 betragen. WILKINSON (301) dagegen konnte den Befund von KUHN u. M. (179, 180) bestätigen. Auf Grund dieser Diskrepanzen verglichen DEUEL u. M. (43) erneut die Aktivitäten beider Isomeren und ermittelten für α -Carotin 53 % der Provitamin-A-Aktivität des all-trans- β -Carotins. Um den Einfluß der optischen Aktivität auf die biologische Wirksamkeit zu prüfen, synthetisierten TSCHARNER u. M. (288 a) l- α -Carotin, den optischen Antipoden des natürlichen d- α -Carotins. Es zeigte im Versuch mit der Vitamin-A-Mangelratte ein Drittel der Zuwachswirkung des β -Carotins (288 b). Dagegen erwies sich die dl- α -Carotin-Form (143 a) im gleichen Test als sehr viel weniger wirksam. In Tagesdosen von 1,8 - 3 β zeigten die Tiere nach vier Wochen die ersten Symptome von Vitamin-A-Mangel (143 b).

Auch die Angabe der biologischen Wirksamkeit des β -Carotins mit 50 % derjenigen des β -Carotins fand Widerspruch. ZECHMEISTER u. M. (40) fanden für eine β -Carotinprobe aus *Mimulus longiflorus* nur 28 %. Sie räumten allerdings ein (314), daß reine β -Carotine verschiedener Quellen beträchtliche Unterschiede in ihren Schmelzpunkten aufwiesen, die, wenn sie nicht kristallographisch, sondern durch kleine Strukturunterschiede bedingt seien, die verschiedenen Biopotenzen der Proben erklären könnten.

Sie (37) wiederholten ihre Versuche mit einer γ -Carotinprobe aus *Pyraecanthus angustifolia* und Tomatenpaste (321), wobei ihre Ergebnisse in Übereinstimmung mit dem ersten Resultat 26 bzw. 27 % betrugen. Interessanterweise zeigte das durch Jod-Katalyse aus Pro- γ -Carotin gewonnene γ -Carotin bei Ratten und Kücken eine viel höhere biologische Aktivität von 42 % der des β -Carotins (100 a).—Über die biologische Potenz des β -Carotins im Vergleich zu Vitamin A wurde viel diskutiert (4, 125). 1934 setzte die HEALTH ORGANIZATION of the LEAGUE of NATIONS (245) kristallines β -Carotin als internationalen Standard für Vitamin A fest und definierte die biologische Aktivität von 0.6 mg als eine Internationale Einheit (I.E.). β -Carotin hielt —wenngleich vielfach angegriffen— seine Stellung bis 1949, wo es dann durch Bestimmung der U.S.-Pharmakopoe von einer Lösung Vitamin-A-Acetat als neuem Standard abgelöst wurde (310). In einer Vielzahl biologischer Tests ergab sich, daß 0.344 mg Vitamin-A-Acetat die gleiche Wirkung besaßen wie 0.6 mg β -Carotin. Seit-her gilt als eine I.E. Vitamin A die biologische Wirkung von 0.344 mg Vitamin-A-Acetat. In der Folgezeit jedoch werteten eine Reihe von Autoren erneut die biologische Potenz des β -Carotins aus (13, 33, 55, 175, 207) und ein Teil von ihnen wies ihm höhere Wirksamkeit zu als das Arzneibuch.

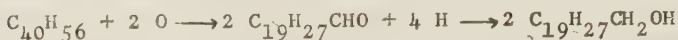
Über den Umwandlungsmechanismus von β -Carotin in Vitamin A liegen zwei Hypothesen vor:

1. die zentrale Spaltung von β -Carotin in zwei Moleküle Vitamin A und
2. der oxydative Abbau des β -Carotins von einem Ende des Moleküls aus mit Bildung von einem Molekül Vitamin A.

Die Ähnlichkeit der Struktur von β -Carotin und Vitamin A ließ KARRER u. M. (159, 160) daran denken, daß das Carotin-Molekül nach zentraler Spaltung und Anlagerung zweier Moleküle Wasser gemäß dieser Gleichung



zwei Moleküle Retinol liefern könnte. HUNTER (126) schlug statt der hydrolytischen eine oxydative Spaltung der zentralen Doppelbindung des Carotins zu Vitamin-A-Aldehyd mit nachfolgender Reduktion des Aldehyds zu Vitamin-A-Alkohol vor.



Es gelang ihm und einem Mitarbeiter, den ersten Schritt der oben formulierten Gleichung durch Oxydation des β -Carotins mit Wasserstoffperoxyd in vitro zu vollziehen. Die Ausbeute an Vitamin-A-Aldehyd war mit 0.4 - 0.5 % allerdings recht gering (127).

Die Spaltung des Carotinmoleküls im Zentrum müßte zur Folge haben, daß unter günstigen Verhältnissen die Potenzen gleicher Gewichtsmengen von β -Carotin und Vitamin A gleich wären (194). Die Hypothese der zentralen Spaltung fand zunächst indirekt Unterstützung durch die Experimente von KUHN u. M. (179, 180) und WILKINSON (301), in denen sich die asymmetrischen α - und β -Isomeren des Carotins als nur halb so aktiv erwiesen wie β -Carotin. Als jedoch Vitamin A in kristalliner Form gefunden und seine biologische Aktivität im Wachstumstest mit der von β -Carotin verglichen wurde, zeigte es sich unerwarteterweise als doppelt so wirksam wie die gleiche Gewichtsmenge Carotin (120). Nachfolgende Arbeiten von MEAD (210) und von HUME (125) bestätigten dieses. Daraus mußte gefolgert werden, daß sich aus einem Molekül β -Carotin nur ein Molekül Retinol bildete.

Andererseits konnte KOEHN (176) im Rattenversuch bei Anwesenheit von genügend Tocopherol im Futter 100 %ige Umwandlung von Carotin in Retinol erreichen, und BURNS u. M. (25) wiederholten später die Experimente mit gleichem Resultat.

Dennoch erschien einer Reihe von Autoren die Hypothese von der zentralen Spaltung -hydrolytisch oder oxydativ- nicht haltbar. GLOVER (80) führte aus, daß auch das 16,16'-Bishomo- β -Carotin biologisch aktiv sei, obwohl es keine zentrale Doppelbindung besitzt, und daß der Stoffwechsel anderer Vitamin-A-bildender Moleküle wie Kryptoxanthin oder α -Carotin niemals zur Speicherung

von Hydroxy- oder α -Vitamin A entsprechend der inerten Hälfte der Carotinoide geführt habe. Auch aus physiko-chemischen Überlegungen heraus entstanden Bedenken gegen einen Bruch des Moleküls an der zentralen Doppelbindung. ZECHMEISER u. M. (318) erläuterten, daß die zentrale Doppelbindung eines konjugierten Systems infolge der Resonanz stabiler sei als eine endständige und sich deshalb weniger leicht angreifen ließe.

Auf Grund der Tatsache, daß Vitamin A sich wesentlich wirksamer zeigte als β -Carotin (120), äußerte MORTON schon 1940 (228) die Ansicht, daß die Spaltung des Carotinmoleküls asymmetrisch von-statten gehe. REDFEARN (256) zeigte in vitro, daß bei der Oxydation des β -Carotins zunächst das Ende der konjugierten Seitenkette angegriffen wurde und sich das Molekül unter Bildung von β -Apo-8', β -Apo-10'- und β -Apo-12'-Carotenal von hinten her zum Retinal abbaute. GLOVER u. REDFEARN (82) hielten einen solchen β -Oxydationsmechanismus (Abb. 22) auch in vivo für möglich, entsprechend demjenigen des Fettsäure-Abbaus. Sie verfütterten die drei Carotenale an Vitamin-A-Mangelratten. Alle Verbindungen bildeten Vitamin A, womit die Befunde von EULER u. M. (63) bestätigt und erweitert wurden. FESTENSTEIN (69) fand zwei Carotenale im Darm des Pferdes -wahrscheinlich β -Apo-10'- und β -Apo-12'-Carotenal (82)-, die, da sie bis dahin niemals in Pflanzen gefunden worden waren, als in vivo-Bildungen betrachtet wurden. WINTERSTEIN u. M. (304) teilten allerdings später mit, daß sie diese Verbindungen auch in Pflanzen nachgewiesen hätten, so daß die Notwendigkeit, sie als Abbauprodukte zu betrachten, nicht besteht.

RÜEGG u. M. (267, 268) verabreichten synthetisierte Apocarotenale an Vitamin-A-verarmte Ratten und bestimmten die im Darm gebildete und in der Leber gespeicherte Menge Vitamin A im Vergleich zu der Menge, die bei gleichen Dosen Carotin erhalten würden. Der Umwandlungsgrad eines jeden Apocarotenals war mit weniger als 4 % enttäuschend gering und paßte nicht in die Erwartung, die man von Zwischenprodukten im Umwandlungsprozess hatte. GLOVER (80) versuchte den geringen Ertrag an Vitamin A damit zu er-

klären, daß die wirklichen Zwischenprodukte vielleicht in einer aktivierten Form vorlägen, die sich nicht ohne weiteres durch diese synthetischen Verbindungen ersetzen ließe.

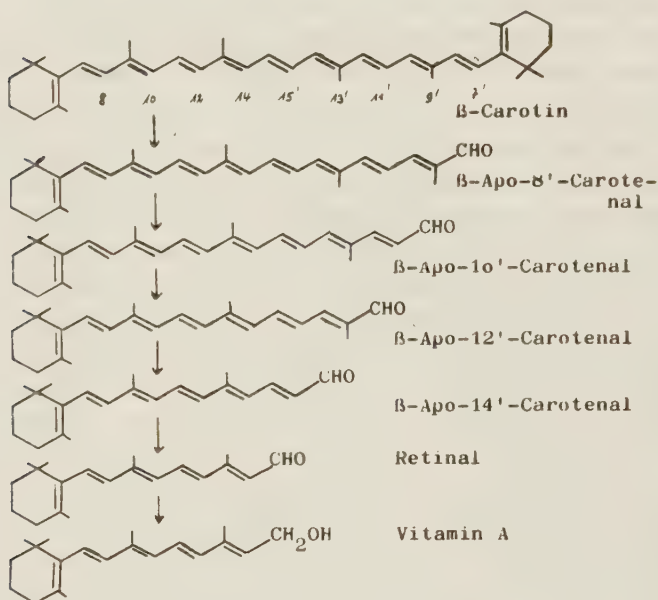


Abb. 22: Schema zur Transformation von β -Carotin in Vitamin A durch terminale Oxydation von GLOVER u. REDFEARN (82)

Wurden die Zwischenprodukte nicht nach ihrer Vitamin-A-Speicherungs-fähigkeit beurteilt, sondern nach ihrer wachstumsfördernden Wirkung, so ergab sich ein ganz anders Bild. MARUSICH u. M. (204) stellten fest, daß die C_{25} -Verbindung β -Apo-12'-Carotenal im Wachstumstest wesentlich wirksamer war als β -Carotin, daß sie, genauer ausgedrückt, 125 % Aktivität besaß gegenüber β -Carotin

mit 100 %. Während ihrer Untersuchungen beobachteten diese Wissenschaftler, daß sich die Aldehyde leicht zu Carboxysäuren oxidierten, ein Vorgang, wie ihn MOORE (225) auch für Retinal und Retinsäure vermutete. GLOVER (80) folgerte, daß, wenn die Umwandlung von Carotin durch normale β -Oxydation stattfände, die Säuren den wahren Zwischenprodukten näher wären. FAZAKERLY u. GLOVER (68) synthetisierten zwei Säuren: die dem β -Apo-14'-Carotenal entsprechende C_{22} -Säure und die dem β -Apo-12'-Carotenal entsprechende C_{25} -Säure. Sie studierten deren Stoffwechsel und den zweier Zwischenprodukte der Synthese, des 2-(15-Hydroxyretinyl)-essigsäureesters und des -(15-Hydroxyretinyl)-tiglinsäureesters. Jede der verabreichten Verbindungen lieferte eine geringe Menge Vitamin A mit Ausnahme des C_{25} -Hydroxysäureesters, der mit einer Umwandlungsrate von 21 % eine erheblich bessere Leistung aufwies als Carotin mit 10 - 15 %.

In ihrer wachstumsfördernden Wirkung waren sowohl der C_{25} -Aldehyd als auch die C_{25} -Säure ebenso gut wirksam wie Vitamin A selbst, während die C_{22} -Säuren, obwohl sie in ihrer Struktur dem Vitamin A ähnlicher sind, nur 1/20 und 1/5 so aktiv waren.

Der Schluß aus diesen Experimenten war der, daß terminale Oxydation des β -Carotins zwar Vitamin A liefern kann, daß aber die β -Oxydation des größeren Fragmentes nicht die Methode ist, durch die es zu Vitamin A abgebaut wird. Die verblüffend höhere biologische Aktivität der C_{25} - β -Apocarotinoide weist nach GLOVER (80) darauf hin, daß sie besser als andere Verbindungen den Substrattyp darstellen, welchen Vitamin-A-bildende Enzyme benötigen. Die relativ geringe Vitamin-A-Ergiebigkeit von β -Apo-12'-Carotenal bleibt im Vergleich zu ihrer ausgezeichneten Wachstumswirkung schwer zu verstehen; sie ließe sich damit erklären, daß neben Vitamin A auch wachstumswirksame Vitamin-A-Säure aus dieser C_{25} -Verbindung gebildet wird (80).

Seit neuestem gewinnt die Hypothese von der oxydativen zentralen Spaltung wieder an Boden. 1965 berichteten GOODMAN u. M. (82a) über ein Verfahren, in dem durch ein zellfreies Homogenisat der Darmmukosa von Ratten aus β -Carotin Vitamin-A-

Aldehyd gebildet wird und zwar in einer Ausbeute bis zu 50 %. Stöchiometrische Berechnungen zeigten, daß der größte Teil des Reaktionsproduktes Retinal aus der zentralen Spaltung des Substrates β -Carotin in zwei Moleküle Retinal entstanden sein muß. Die Autoren vermuteten, daß die zentrale Spaltung in zwei Vitamin-A-Aldehyd-Moleküle durch Reaktion des β -Carotins mit molekularem Sauerstoff zustande kommt.

Während man zunächst annahm, daß die Umwandlung von Carotin ausschließlich in der Leber vonstatten ging, (154, 240, 300) hat man heute über den Ort der Vitamin-A-Entstehung klarere Vorstellungen gewonnen. Zahlreiche Versuche in vivo und in vitro haben bewiesen, daß der Dünndarmwand die größte Bedeutung für den Umwandlungsvorgang zukommt (2, 84, 232, 238, 239, 266, 272, 300). Jedoch wurde daneben mit intravenös verabreichtem Carotin der Beweis erbracht, daß bei Ratte, Kaninchen und Meerschweinchen auch andere Körpergewebe die Umbildung zu Vitamin A vollziehen können (17, 209, 309, 312).

2. Stereoisomere der Carotine

Da auch das chromophore System der Carotinoide cis- und trans-Arrangements zuläßt, sind unter den Carotinoid-verwandten Verbindungen einige Stereoisomere zu erwähnen. ZECHMEISTER (313, 314) hat immer wieder den starken Einfluß der stereochemischen Konfiguration eines Provitamins auf seine biologische Aktivität betont. Änderungen der Raumanordnung innerhalb der all-trans-Carotinoid-Moleküle haben seiner Meinung nach den gleichen Wirkungsverlust zur Folge wie erhebliche Änderungen der chemischen Struktur. Eine Ausnahme bildet das später zu erwähnende Pro- β -Carotin.

Das erste Stereoisomere war das von GILLAM u. M. (77) aus β -Carotin erhaltene "Pseudo- α -Carotin", dem sie nach einem biochemischen Versuch mit Ratten erstaunlicherweise eine Provitamin-A-Aktivität der Größenordnung des all-trans- β -Carotins zuwiesen (79). Unter der Bezeichnung "Neo- β -Carotin" wurde dasselbe Iso-

mere von BEADLE u. M. (15) getestet, die es "bedeutend weniger wirksam" fanden, und von KEMMERER u. M. (168, 169), die seine biologische Aktivität mit 50 % der des β -Carotins bestimmten. ZECHMEISTER u. M. (254, 322) erhielten bei in-vitro-Isomerisierungen des β -Carotins das Neo- β -Carotin B (Abb. 23). Sie identifizierten es als dicis-Isomeres, dessen cis-Bindungen sie in Position 3 und 6 oder in 3 und 7 vermuteten, und sahen es als Hauptkonstituenten des alten kristallinen Pseudo- α -Carotins an. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von KEMMERER u. M. (168) fanden DEUEL u. M. (38) für Neo- β -Carotin B 53 % der Provitamin-A-Potenz des all-trans Isomeren. Die Mitteilung von MANN (202), daß die Anwesenheit von Pseudo- α -Carotin (Neo-Carotin B) die biologische Aktivität von β -Carotinlösungen nicht beeinträchtigte, kann deshalb nur für kleine Mengen dieses dicis-Isomeren gelten.

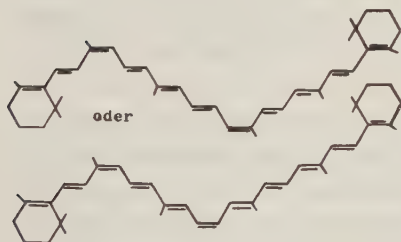


Abb. 23: Neo- β -Carotin B



Abb. 24: Neo- β -Carotin U

Unter günstigen Versuchsbedingungen lieferte das β -Carotin ungefähr ein Dutzend Isomere. Aus dem Gemisch konnten neben Neo- β -Carotin B Neo- β -Carotin U (Abb. 24) kristallin erhalten und als periphere monocis- wahrscheinlich 3-monocis-Verbindung- charakterisiert werden (254). Aus der Gewichtszunahme von Ratten errechneten sie für Neo- β -Carotin U eine biologische Potenz von ungefähr 38 % der des natürlichen all-trans- β -Carotins (39). JOHNSON u. M. (134) bestimmten später die biologische Potenz des Neo- β -Carotins B und U mit Hilfe ihrer Vitamin-A-Speicherungsfähigkeit in Rattenlebern und erhielten folgendes Ergebnis: all-trans-

β -Carotin : Neo- β -Carotin B : Neo- β -Carotin U = 100 : 48 : 33, das bemerkenswert übereinstimmt mit den Werten von DEUEL u. M. (38, 39). Das von KEMMERER u. M. (168) aus Alfalfa-Extrakten isolierte "Carotinoid X" erwies sich als identisch mit Neo- β -Carotin U. Nachdem die Autoren zunächst keine biologische Aktivität feststellen konnten (172), teilten sie später Werte von 22 und 25 % der biologischen Wirksamkeit des β -Carotins mit (171).

1950 synthetisierten INHOFFEN u. M. (128) 15,15'-monocis- β -Carotin, das zentrale mono-cis-Isomere des β -Carotins, das an Vitamin A-verarmten Ratten und Kücken in niedrigen Tagesdosen die halbe biologische Aktivität des β -Carotins zeigte, bei steigender Tagesdosis fiel die Provitamin-A-Wirksamkeit auf 1/3 und weniger (315). 1953 beschrieben KARRER u. M. (57 a) das 11,11'-dicis- β -Carotin, welches zum all-trans- β -Carotin in demselben Verhältnis steht wie Neo- β -Vitamin A zu Vitamin A. Seine biologische Aktivität betrug 1/3 der des all-trans- β -Carotins (129 a).

Auch α -Carotin geht mit Isomerisierungsreagentien in ein Gemisch verschiedener Neo-Isomeren über. Die ersten Daten über ein cis-Isomeres von α -Carotin stammen von GILLAM u. M. (79). Sie erhielten aus all-trans- α -Carotin eine "Neo-Carotin"-Lösung, die nach Kristallisation "Neo- α -Carotin" ergab. Neo- α -Carotin zeigte im Rattenwachstumstest eine Wirkung von 70 % der des all-trans- β -Carotins. Keine dieser beiden Proben konnte in der Folgezeit mit einem reinen Stereoisomeren des α -Carotins identifiziert werden (314). DEUEL u. M. (38) erhielten aus all-trans- α -Carotin Neo- α -Carotin U als 9 oder 3-monocis-Isomeres und die 3,6- oder 3,7-dicis-Verbindung Neo- α -Carotin B. ZECHMEISTER (314) hält es für möglich, daß die letztere Verbindung die Hauptkomponente von GILLAM'S Neo-Carotin gewesen ist (79). Der Rattenwachstumstest ergab für Neo- α -Carotin U eine biologische Wirksamkeit von 13 % der des all-trans- β -Carotins, für Neo- α -Carotin B eine relative biologische Potenz von 16 %.

δ -Carotin besitzt ein in *Pyracantha*-Beeren natürlich vorkommendes Stereoisomeres, das in künstlichen Isomerisierungsmischungen nicht beobachtet werden konnte: Neo- δ -Carotin P. (320). Auf Grund seiner physikalischen Eigenschaften gliederte ZECHMEISTER (320) dieses Naturprodukt in die Reihe der peripheren mono-cis-Verbindungen wie Neo- α -Carotin U und Neo- β -Carotin U ein. Die Provitamin-A-Potenz betrug 19 % der des all-trans- β -Carotins (37). Die in vitro Isomerisierung von δ -Carotin ergab ein Gemisch nicht kristallisierender Neoisomere, das nicht in seine einzelnen Bestandteile aufgelöst werden konnte. Die biologische Aktivität der gesamten Gruppe von δ -Carotin-Isomeren ergab im Rattenwachstumstest einen Wert von 16 % der des all-trans- β -Carotins (323). ZECHMEISTER u. M. (324/316) isolierten aus einigen Palmfrüchten, aus reifen Beeren von *Pyracantha angustifolia* und aus dem Samen von *Evonymus fortunei* das interessanteste Stereoisomere von δ -Carotin: Pro- δ -Carotin. Sie charakterisierten es als Poly-cis-Isomeres, dem wahrscheinlich die Zusammensetzung 9, 10; 13, 14; 13', 14'; 9', 10'; 5', 6'-penta-cis- δ -Carotin entspricht (318, 323). Im Rattenwachstumstest entwickelte Pro- δ -Carotin eine kräftige Aktivität als Provitamin A, die 44 % der des all-trans- β -Carotins betrug (40), und damit war es 1,6 mal wirksamer als all-trans- δ -Carotin aus *Pyracantha* (26 - 28 %) und ebenso wirksam wie das durch Jodkatalyse aus Pro- δ -Carotin erhaltene all-trans-Isomere.

Die Frage, warum sich die biologische Potenz eines Provitamins mit Änderung seiner Geometrie vermindert -ausgenommen ist Pro- δ -Carotin-, ist bisher ebenso wie die Frage nach dem Mechanismus der Umwandlung unbeantwortet geblieben. DEUEL u. M. (39) ziehen als Erklärung für den teilweisen Wirkungsverlust schnellere Zerstörung der verschiedenen cis-Isomeren im Gastrointestinaltrakt vor der Absorption heran oder langsamere Absorption und größeren Verlust durch Elimination. Im Hinblick auf den Umwandlungsmechanismus wäre es verlockend einfach anzunehmen, daß jedes cis-Provitamin zunächst in sein all-trans-Isomeres umgewandelt werden muß, ehe es Substrat für die enzymatische Spaltung werden kann (314). Obwohl KEMMERER u. M. (170, 171) Stereoisomerisierung

von Neo- β -Carotin U im Verdauungstrakt beobachtete, konnte die geringe Umwandlungsrate der cis- in die all-trans-Verbindung von $1/5 - 1/8$ der verabreichten Dosis keinen Beweis dafür geben, daß die Bioaktivität von Neo- β -Carotin U auf seiner Isomerisierung zum all-trans- β -Carotin beruhte. ZECHMEISTER (314) hält es für unwahrscheinlich, daß bei der Umwandlung in Vitamin A die all-trans-Formen den Vorrang haben sollen. Er nimmt vielmehr an, daß allen den stereoisomeren Provitaminen biologische Aktivität zukommt, deren Gesamtform in ein spaltendes Enzymsystem paßt. Die relativ hohe Potenz des Pro- -Carotins ließe sich in dieser Weise durch den stabartigen Bau seines Moleküls erklären, der dem des all-trans-Isomeren nahe verwandt ist.

3. Carotinoxyde

β -Carotin ist zur Bildung von 5 Oxydationsprodukten imstande:

- | | |
|--|----------------|
| 1. β -Carotin-monoepoxyd | (139) |
| 2. β -Carotin-diepoxyd | (61, 156) |
| 3. β -Carotin-monofuranoxyd (Mutatochrom, Citro-xanthin) | (64, 148, 152) |
| 4. β -Carotin-difuranoxyd (Aurochrom) | (156) |
| 5. β -Carotin-monofuranoxyd-monoepoxyd (Luteochrom) | (61, 156) |

Über die biologische Aktivität von β -Carotin-monoepoxyd konnte ich keine Information erhalten, jedoch läßt seine Struktur Provitamin Wirksamkeit erwarten. Nach Angaben von EULER u. M. (64) besaß Mutatochrom (sie hielten es damals für β -Carotin-monoepoxyd) bei Ratten "ausgezeichnete Wirkung", in Tagesdosen von 5 . GRIDGEMAN u. M. (101) gaben dagegen für seine biologische Aktivität weniger als 39 % der des β -Carotins an. Im Hinblick darauf, daß das Monofuranoxyd einen unsubstituierten β -Iononring enthält, erschien die Fähigkeit von Mutatochrom, als Provitamin A zu wirken, nicht erstaunlich. Interessanter war die Mitteilung von KARRER u. M. (61, 156), daß das β -Carotin-diepoxyd bei der Ratte 70 % der β -Carotinaktivität übernehmen konnte und Luteochrom 20 %, obwohl in beiden Molekülen kein unsubstituierter β -Iononring

mehr vorhanden ist. Die Verfasser zogen daraus den Schluß, daß der Organismus der Ratte die beiden Verbindungen zu β -Carotin bzw. Mutatochrom desoxydiert. Dagegen schien er zur Desoxydation des difuranoiden Oxyds nicht fähig zu sein, da sich Aurochrom als völlig unwirksam erwies.

Neben β -Carotin-monoepoxyd ist das α -Carotin-monoepoxyd bekannt, das von KARRER u. M. (156) aus den Blüten von Ranunculus acer und auch synthetisch (150) dargestellt wurde. Dieselben Autoren berichteten, daß es in Tagesdosen von 10^4 volle Vitamin-A-Wirksamkeit entfaltete, obwohl es über keinen unsubstituierten β -Iononring mehr verfügte.

4. Oxy- und Hydroxy-Derivate der Carotine

1935 isolierte LEDERER (185) aus den Gonaden des Seeigels *Strongylocentrotus lividus*, der irrtümlicherweise als *Echinus esculentus* bestimmt worden war, das erste Tier-Carotinoid Echinenon, dem er auf Grund seines chemischen und spektroskopischen Verhaltens die Struktur eines 3-Monoketo-Carotinoids zuwies. GOODWIN u. M. (85) hielten es dagegen eher für 4-Keto- β -Carotin (Abb. 25), und GOODWIN (83) konnte ebenso wie GANGULY u. M. (73) später die Richtigkeit dieser Formulierung beweisen.

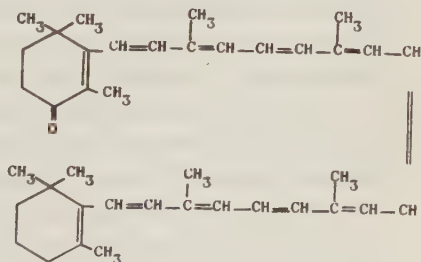


Abb. 25: Echinenon

LEDERER u. M. (186) berichteten als erste über die biologische Wirksamkeit der neuen Verbindung. Bei Tagesdosen von 5 - 10^4 erhielten sich A-defiziente Ratten schnell von ihrem Wachstumsstillstand, die Verabreichung von ungefähr 4 mg über mehrere

Tage hatte das Erscheinen von Vitamin A in der Leber zur Folge. Mehr als 15 Jahre später arbeiteten GANGULY u. M. (74) an einer quantitativen Auswertung der Provitamin-A-Aktivität des Echinonons aus *Strongylocentrotus purpurata* und gaben für seine biologische Aktivität einen Wert von annähernd 54 % der des β -Carotins an.

1935 fanden HEILBRON u. M. (112) in der Alge *Rivularia nitida* ein neues Carotinoid, das sie Myxoxanthin nannten und dessen Konstitution sie bestimmten. Über die biologische Aktivität der neuen Verbindung gaben die Autoren an, daß sie in Tagesdosen von 10 mg an Ratten wirksam sei (111). GOODWIN u. M. (86) stellten auf Grund vergleichender chromatographischer und spektralanalytischer Untersuchungen die Identität von Myxoxanthin und Echinenon fest, so daß ihrer Ansicht nach beiden Verbindungen die 4-Keto- β -Carotin-Struktur entspricht. Jedoch wies HEJNO (115) darauf hin, daß die Spektraldaten allein für die Struktur nicht beweisend seien.

1938 isolierte TISCHER (287) aus der Blaualge *Aphanizomenon flos-aquae* die beiden Polyenfarbstoffe Aphanicin und Aphanin. Während die Konstitution des Aphanicins bisher unbekannt ist, wurde Aphanin von TISCHER (288) als 3-Keto- β -Carotin charakterisiert. Über den Bau des Aphanicins sprach derselbe Autor die Vermutung aus, daß es aus zwei durch Sauerstoffbrücke verbundenen Aphanin-Molekülen bestehe. GOODWIN u. M. (85) kamen später beim Vergleich der Eigenschaften des Aphanins und Echinenons zu der Überzeugung, daß auch diese beiden Substanzen identisch seien. SCHEUNERT (270) u. M. erhielten im Rattenwachstumstest für die biologische Aktivität von Aphanin einen Wert von 50 % und für Aphanicin einen Wert von 25 % der Zuwachswirkung von β -Carotin.

1933 isolierten japanische Forscher aus *Cariaca papaya* ein Phytotoxanthin, für das sie entsprechend seiner Herkunft den Namen Caricaxanthin vorschlugen (311). Kurze Zeit später gewannen KUHN u. M. (181) aus Kelchen und Beeren verschiedener Arten der Judenkirsche (*Physalis francettii*, *alkegenki*) das Kryptoxanthin,

dessen Identität mit Caricaxanthin KARRER u. M. (162) feststellten. Kryptoxanthin stellt das 3-Hydroxyderivat des β -Carotins dar (140). KUHN u. M. (182) untersuchten als erste die relativen Biopotenzen von all-trans- β -Carotin und Kryptoxanthin. Sie fanden, daß Kryptoxanthin bei vitamin-A-frei ernährten Ratten in Tagesdosen von 5 - 10 mg ungefähr dasselbe Wachstum erzeugte wie β -Carotin in Tagesdosen von 2,5 mg. 7 Jahre später gaben FRAPS u. M. (168) das Verhältnis der Biopotenzen von β -Carotin und seinem 3-Hydroxy-Derivat mit 1,1 : 0,6 an, d.h. Kryptoxanthin zeigte eine Aktivität von 55 %. DEUEL u. M. (41) erhielten in zwei Rattenwachstumstesten für die biologische Wirksamkeit von Kryptoxanthin Werte von 54 und 59 % der des β -Carotins. Wurde statt der wachstumsfördernden Wirkung des Kryptoxanthins seine Vitamin-A-Speicherungsfähigkeit als Kriterium für seine biologische Wirksamkeit gewählt, so erwies es sich bei der Ratte als fast ebenso wirksam wie β -Carotin (135). WITH u. M. (306) untersuchten seine Aktivität an Hühnern und Kücken und fanden es merkwürdigerweise doppelt so wirksam wie β -Carotin. Die verabreichte Menge Kryptoxanthin wurde aus dem Kryptoxanthin-Gehalt des Maisanteils der Diät errechnet. GRESENBERG u. M. (100) konnten für die biologische Aktivität von Kryptoxanthin im Vergleich zu β -Carotin nur 55 % feststellen.

Wie alle Experimente übereinstimmend zeigten, gehört Kryptoxanthin zu den biologisch aktiven Vitamin A Substanzen. Während WITH (305) berichtete, daß Kryptoxanthin per se wachstumsfördernde Eigenschaften besaß, konnten PATEL u. M. (243) ebenso wie GANGULY u. M. (72) nachweisen, daß es in der Darmwand von Ratten bzw. Kücken in Vitamin A umgewandelt wurde. In einer späteren Arbeit stellten GANGULY u. M. (75) allerdings fest, daß nach Verfütterung von reinem Kryptoxanthin an carotinoid-verarmte Kücken beträchtliche Mengen dieser Substanz im Blut, in der Leber und den Eierstöcken auftraten, während andererseits nach Verabreichung von α - oder β -Carotin nur Spuren dieser beiden

Verbindungen in denselben Geweben erschienen. Die Verfasser erläuterten ihre Ergebnisse, daß Kryptoxanthin, obwohl es sich von der Darmmukosa in Vitamin A umwandeln läßt, die intestinale Schranke auch in beachtlichem Maß zu durchdringen vermag im Gegensatz zu α - und β -Carotin. Damit eröffnete sich die bisher unbeantwortete Frage, ob Kryptoxanthin wie Carotin anderswo als in der Darmwand einem Umwandlungsprozess unterzogen wird.

Für die Vermutung von GRIMBLEY u. BLACK (102), daß Hühner andere Carotinoidpigmente in Kryptoxanthin umwandeln können, gab es bisher keine Beweise.

STRAIN (281, 282) erwähnte 1938 das erste Stereoisomere des Kryptoxanthins, das "Neo-Kryptoxanthin". KEMMERER u. M. (168) bestimmten seine biologische Aktivität mit 37 % der des β -Carotins. ZECHMEISTER u. M. (29, 326) erhielten bei in vitro Isomerisierungen des all-trans-Kryptoxanthins ein Gemisch von Neo-Kryptoxanthin A, Neo-Kryptoxanthin U und anderen Isomeren. Neo-Kryptoxanthin A wurde von ihnen als zentrales mono-cis-, wahrscheinlich 6-mono-cis-Kryptoxanthin gedeutet und als Hauptbestandteil des STRAIN'schen "Neo-Kryptoxanthins" angesehen. DEUEL u. M. (42) ermittelten im Rattenwachstumstest für Neo-Kryptoxanthin A eine biologische Aktivität von 42 % der des β -Carotins oder 74 % der des all-trans-Kryptoxanthins.

Neo-Kryptoxanthin U wurde als 3-mono-cis-Form des Kryptoxanthins charakterisiert. Es zeigte an Ratten 27 % der biologischen Aktivität des β -Carotins oder 45 % der des all-trans-Kryptoxanthins (314).

Isokryptoxanthin ist das 4-Hydroxyderivat des β -Carotins, das bei der Ratte eine Provitamin-A-Aktivität von ungefähr 50 % der des β -Carotins besaß (327).

Vor knapp 10 Jahren isolierten CHOLNOKY u. M. (32) aus der reifen Frucht des gelben, tomatenförmigen Paprikas (*Capsicum annuum*) das 3'-Hydroxyderivat des α -Carotins: α -Kryptoxanthin. Die Verfasser berichteten, daß die an Vitamin-A-Mangelratten durchgeführten

Versuche für biologische Aktivität sprechen.

Die antixerophthalmische Aktivität eines öligen Extraktes aus der Crustacee *Arsiteomorpha foliaceus* (*Pennaeus foliaceus*), von der GRANGAUD u. M. (90) erstmals 1948 berichteten, beruhte auf der Anwesenheit des roten Carotinoidpigmentes Astaxanthin, welches als 3,3'-Dihydroxy-4,4'-diketo- β -Carotin charakterisiert wurde (154). In biologischen Versuchen mit vitamin-A-verarmten Ratten wurde mit einer Tagesdosis von 40 mg in weniger als 10 Tagen eine Heilung der xerophthalmischen Veränderungen herbeigeführt, jedoch war die Wirkung auf das Gewicht der Tiere in dieser Dosis praktisch null, und sie starben ausnahmslos nach 3-wöchiger Behandlung (92). In höheren Dosen (90 mg) unterhielt der ölige Extrakt auch normales Wachstum, aber er konnte weder bei weiblichen noch bei männlichen Tieren die Fortpflanzungsfähigkeit aufrecht halten (206). Während Astaxanthin bei Ratten das Vitamin A nicht vollständig ersetzen konnte, stellte es bei *Gambusia holbrooki* Grd. (Karpfenfamilie) ein echtes Provitamin A dar, indem es sich im Darm, in der Leber und in den Augen dieser Fische (93, 97) ebenso wie in der isolierten Darmwand (95) und im isolierten Augengewebe (207) in Retinol umwandeln ließ. Interessanterweise führte die Umwandlung von Astaxanthin nicht nur zur Bildung von Vitamin A₁, sondern ließ daneben auch Vitamin A₂ entstehen; außerdem traten im Verlaufe dieses Vorgangs geringe Mengen β -Carotin auf (96).

Im Zusammenhang mit der Provitamin-A-Aktivität von Astaxanthin bei Fischen sei eine Notiz von LANE (184) erwähnt. Er berichtete 1950, daß er mit einem öligen Planktonextrakt tiefroter Farbe, in dem Carotinoide nicht nachweisbar waren, den Vitamin-A-Gehalt der Lebern von *Limanda ferruginea* bedeutend erhöhen konnte.

5. Hydro- und Dehydro-Verbindungen der Carotine

1959 isolierten PETZOLD u. M. (247) zwei neue Provitamine A aus Mais, β -Zeacarotin und β_1 -Zeacarotin, und (isolierten) identi-

fizierten das erstere als 7', 8'-Dihydro-Derivat des β -Carotins. In einer einzigen Dosis von 40 mg/Ratte zeigte sich β -Zeacarotin 1/4 so aktiv wie β -Carotin und doppelt so aktiv wie β_1 -Zeacarotin. (Abb. 26).

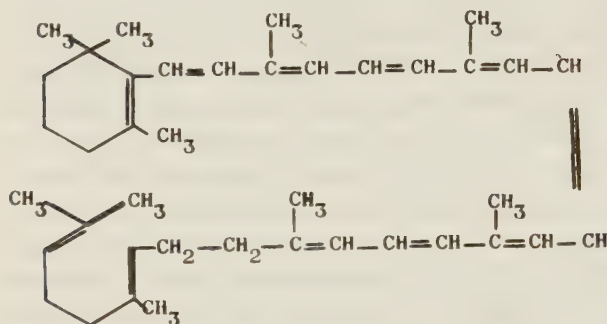


Abb. 26: β - Zeacarotin

Trotz Erhöhung seines Wasserstoffgehaltes hat das neue Provitamin damit beinahe die gleiche Wirksamkeit wie natürlich vorkommendes β -Carotin.

ISLER u. M. (131) dehydrierten beide β -Iononringe des β -Carotins und erhielten 3,4-3',4'-Bisdehydro- β -Carotin. Im Wachstumstest an A-defizienten Ratten entwickelte es 40 % der Aktivität des β -Carotins.

Die Strukturdifferenz von Vitamin A₁ und A₂ und die Tatsache, daß beide nicht (23) oder nur beschränkt (96) ineinander umwandelbar sind, stimulierte die Suche nach einem 3,4-Dehydro-Carotin-Molekül als Provitamin A₂. KARMAKAR u. M. (138) berichteten über die Darstellung von 3,4-Dehydro- α -Carotin und 3,4-Dehydro- β -Carotin. Sie bestimmten die Provitamin-A-Potenz der ersten Verbindung mit 15 % der des β -Carotins bzw. 1/3 der des α -Carotins. Eine interessante Verbindung im Hinblick auf die Biogenese von Vitamin A₂ ist das 3'-Hydroxy-3,4-Dehydro- β -Carotin, welches ZECHMEISTER u. M. (319) aus Lutein durch Abspaltung

eines Moleküls Wasser -einer Reaktion, die denkbarerweise auch in vivo ablaufen könnte- herstellten (Abb. 27). Auf Grund der von KARMAKAR u. M. gemachten Beobachtungen über 3,4-dehydrierte Systeme erwarteten sie auch vom Deoxylutein (der Name stammt aus älteren Experimenten mit Lutein von ZECHMEISTER u. M. (325)) biologische Aktivität als Provitamin A. Tatsächlich zeigte Deoxylutein bei der Ratte ungefähr 10 % des Wachstumseffektes von β -Carotin.

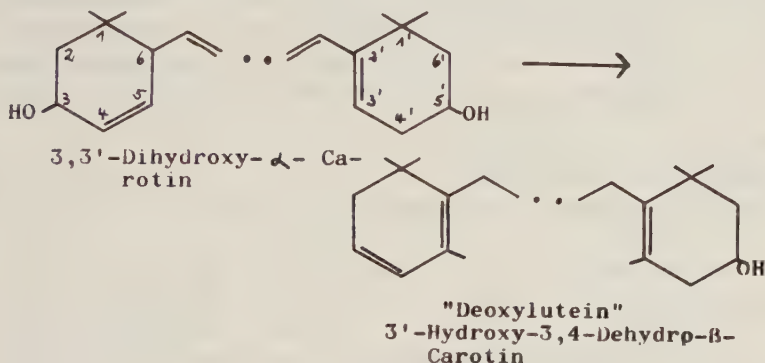


Abb. 27: Deoxylutein (319)

BUDOWSKI u. M. (23) konnten vor kurzem aus der unverseifbaren Fraktion bearbeiteter Alfalfa Lipide ein Carotinoid vom Bau des dehydrierten Luteins isolieren, für das sie statt Deoxylutein den treffenderen Namen Anhydrolutein vorschlugen. Sie verfütterten diese Substanz an Vitamin A-defiziente Kücken und konnte nach 4 - 5 Tagen bedeutende Mengen Vitamin A_2 und nur sehr wenig Vitamin A_1 in ihren Lebern nachweisen. Die Autoren wiesen darauf hin, daß die Suche nach natürlichem Provitamin A_2 sich vor allem auf niedere Tiere und pflanzliche Organismen zu erstrecken habe, die als Futter von Süßwasserfischen dienen.

DE NICHOLA (237) beschrieb ein Pigment aus dem Echinodermen Ophiaster ophidianus, das in seinem chromatographischen Verhalten

dem von BUDOWSKI erhaltenen 3'-Hydroxy-3,4-Dehydro- β -Carotin
ähnlich war.

6. Carotin-Carbonsäure: Torularhodin

Unter den biologisch aktiven Carotinoiden findet sich auch eine Verbindung mit Carbonsäurecharakter, die von LEDERER (184 a) erstmals bei der Untersuchung der Carotinoide von *Torula rubra* festgestellt wurde. KARRER u. RUTSCHMANN (161 a) erarbeiteten ihre Konstitution und bestimmten an Ratten die biologische Aktivität ihres Esters mit 3,3 - 6,6 % der des β -Carotins. (Abb. 28).

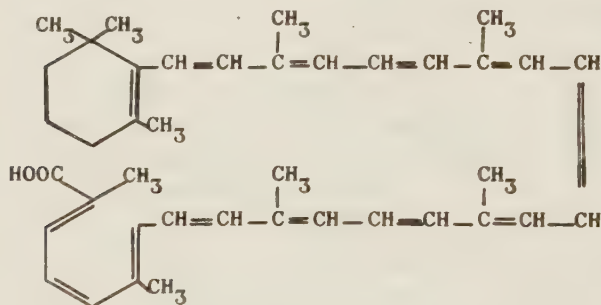


Abb. 28: Torularhodin

C. Zusammenfassung

Tab. 1: Übersicht über die in Teil B abgehandelten Vitamin A-verwandten Verbindungen und ihre biologische Wirksamkeit

Vitamin A-verwandte Verbindungen	Relative molare biologische Aktivität im Vergleich zu Vitamin-A-Alkohol für die Ratte
A l k o h o l e	
Vitamin A ₂	30 - 40 % (Wachstumstest) 50 % (Vaginalabstrichetest)
Neovitamin A	66 % (Leberspeicherungstest) 72 - 80 % (Wachstums- und Leberspeicherungstest) 68 % (Kolpokeratosetest)
Neo-b-Vitamin A	25 - 33 % (Leberspeicherungstest)
Iso-a-Vitamin A	
Iso-b-Vitamin A	25 % (Wachstumstest)
Vitamin A ₃	"beachtlich" bis "beinahe unwirksam" (Wachstumstest)
Dimethylamino-Vitamin A	"beachtlich" (Wachstumstest)
Carbinol	0.1 % (Wachstumstest)
Hepaxanthin	4 - 5 % (Wachstumstest)
E s t e r	
Accetat	
Succinat	
Butyrat	100 % (Wachstumstest)
Laurat	
Stereat usw.	

Fortsetzung Tab. 1

Vitamin A-verwandte Verbindungen	Relative molare biologische Aktivität im Vergleich zu Vitamin-A-Alkohol für die Ratte
A e t h e r	
Methyläther	ca. 100 % (Wachstumstest)
Tetrahydropyranyläther	
Phenyläther	10 % (Wachstumstest)
Norvitamin-A-methyläther	3.3 % (Wachstumstest)
A l d e h y d e	
Vitamin-A ₁ -Aldehyd	91 - 100 % (Wachstumstest)
Vitamin-A ₂ -Aldehyd	33 % (Wachstumstest) 50 % (Vaginalabstrichetest)
S ä u r e n	
Vitamin-A-Säure	10 - 66 % (Wachstumstest) 8 % (Vaginalabstrichetest) 100 % (Kolpokeratosetest)
Carboxyvitamin-A-Säure	0.014 % (Wachstumstest)
S o n s t i g e	
Anhydrovitamin A ₁	0.4 % (Wachstumstest)
Rehydrovitamin A ₁	6.6 % (Wachstumstest)
Isoanhydrovitamin A ₁	ca. 0.4 % (Wachstumstest)
Axerophthen	10 % (Wachstumstest)
C ₂₁ -Keton	10 % (Wachstumstest)

Tab. 2: Übersicht über die in Teil B abgehandelten β -Carotin-verwandten Verbindungen und ihre biologische Wirksamkeit

Provitamine A	relative molare biologische Aktivität im Vergleich zu all-trans- β -Carotin für die Ratte
Neo- β -Carotin B	48 % (Leberspeicherungstest) 53 % (Wachstumstest)
Neo- β -Carotin U	33 % (Leberspeicherungstest) 38 % (Wachstumstest)
15,15-monocis- β -Carotin	50 % in geringer Dosis (Wachstumstest) 33 und weniger % in hoher Dosis (Wachstumstest)
11,11'-dicis- β -Carotin	33 % (Wachstumstest)
D- α -Carotin	53 % (Wachstumstest)
L- α -Carotin	33 % (Wachstumstest)
Neo- α -Carotin B	16 % (Wachstumstest)
Neo- α -Carotin U	13 % (Wachstumstest)
γ -Carotin (aus Mimulus- und Pyracantha-Arten)	26-28 % (Wachstumstest)
γ -Carotin (aus Pro- γ -Carotin durch Jod-Katalyse dargestellt)	42 % (Wachstumstest)
Neo- γ -Carotin P	19 % (Wachstumstest)
Pro- γ -Carotin	44 % (Wachstumstest)
β -Carotin-diepoxyd	70 % (Wachstumstest)
Mutatochrom	39 % (Wachstumstest)
Luteochrom	20 % (Wachstumstest)
Echinenon	54 % (Wachstumstest)
Aphanin	50 % (Wachstumstest)
Aphanicin	25 % (Wachstumstest)
Kryptoxanthin	54-59 % (Wachstumstest)
Neo-Kryptoxanthin A	42 % (Wachstumstest)
Neo-Kryptoxanthin U	27 % (Wachstumstest)
Isokryptoxanthin	50 % (Wachstumstest)

Fortsetzung Tab. 2

Provitamine A	Relative molare biologische Aktivität im Vergleich zu all-trans- β -Carotin für die Ratte
β -Zeacarotin	25 % (Wachstumstest)
β_1 -Zeacarotin	12.5 % (Wachstumstest)
3,4-3',4'-Bisdehydro- β -Carotin	40 % (Wachstumstest)
Deoxylutein	10 % (Wachstumstest)
Torularhodin	3.3 - 6.6 % (Wachstumstest)

D. Literaturnachweis:

Vitamin-A- und Carotin-wirksame Substanzen

1. ABDULLAH, M.M., S. R. MORCOS u. M.K. SALAH: Biochem. J. 56, 569 (1954)
2. ALEXANDER, J. u. T.W. GOODWIN: Brit. J. Nutr. 4, 421 (1950)
3. AMES, S.R., W.J. SWANSON u. P.L. HARRIS: J. amer. chem. Soc. 77, 4134 (1955)
4. AMES, S.R.: Ann. Rev. Biochem. 371 (1958)
5. ARENS, J.F., D.A. VAN DORP: Nature 157, 190 (1946)
6. --, --: Nature 158, 60 (1946)
7. --, --: Nature 158, 622 (1946)
8. --, --: Rec. Trav. Chim. 65, 338 (1946)
9. BALASUNDARAM, S., M.S. BAMJI, H.R. CAMA, P.R. SUNDARESAN u. T.N. VARMA: J. biol. Chem. 233, 827 (1958)
10. BALASUNDARAM, S., H.R. CAMA, P.R. SUNDARESAN u. T.N. VARMA: Biochem. J. 64, 150 (1956)
11. BALL, S., T.W. GOODWIN u. R.A. MORTON: Biochem. J. 42, 516 (1948)
12. BAMJI, M.S., H.R. CAMA u. P.R. SUNDARESAN: J. biol. Chem. 237, 2747 (1962)
13. BARNETT, H.M. u. H.M. ESPOY: Food Res. 22, 15 (1957)
14. BAXTER, J.G.: Fortschr. Ch. org. Naturst. 2, 41 (1952)
15. BEADLE, B.W. u. F.P. ZSCHEILE: J. biol. Chem. 144, 21 (1942)
16. BEUTEL, R.H., D.F. HINKLEY u. P.I. POLLAK: J. amer. Chem. Soc. 77, 5166 (1955)
17. BIERI, J.G. u. C.J. POLLARD: Brit. J. Nutr. 8, 32 (1954)
18. BOGUTH, W., V. HORN, M.K. SOLIMAN, B. WEISER: Int. Z. Vitaminforsch. 31, 6 (1960)
19. BRAUDE, R., A.S. FOOT, K.M. HENRY, S.K. KON, S.Y. THOMPSON u. T.H. MEAD: Biochem. J. 35, 693 (1941)
20. BROWN, P.S., W.P. BLUM u. M.H. STERN: Nature 184, 1377 (1959)
21. BROWN, P.S. u. G. WALD: J. biol. Chem. 222, 865 (1956)
22. BRUEGGEMANN, J. u. J. TIEWS: Int. Z. Vitaminforsch. 30, 279 (1960)
23. BUDOWSKI, P., I. ASCARELLI, J. GROSS u. I. NIR: Science 142, 969 (1963)
24. BUDOWSKI, P. u. A. BONDI: Analyst 82, 751 (1957)
25. BURNS, M.J., S.M. HAUGE u. F.W. QUAKENBUSH: Arch. Biochem. 30, 341 (1951)

26. CAMA, H.R., P.D. DALVI, R.A. MORTON u. M.K. SALAH: Biochem. J. 52, 542 (1952)
27. CAMA, H.R., P.D. DALVI, R.A. MORTON, M.K. SALAH, G.R. STEINBERG u. A.L. STUBBS: Biochem. J. 52, 535 (1952)
28. CAWLEY, J.D., C.D. ROBESON, L. WEISLER, E.M. SHANTZ, N.D. EMBREE u. J.G. BAXTER: Science 107, 346 (1948)
29. CHATTERJEE, A. u. L. ZECHMEISTER: J. amer. chem. Soc. 72, 254 (1950)
- 29a. CHATZINOFF, A., N. MILLMAN, W. OROSHNIK, F. ROSEN: Am. J. ophthal. 46, 205 (1958)
30. CHEESEMAN, G.W.H., I. HEILBRON, E.R.H. JONES, F. SONDHEIMER u. B.C.L. WEEDON: J. chem. Soc. 1516 (1949)
31. CHEESEMAN, G.W.H., I. HEILBRON, E.R.H. JONES u. B.C.L. WEEDON: J. chem. Soc. 3120 (1949)
32. CHOLNOKY, L., J. SZABOLCS u. E. NAGY: Liebigs Ann. Chem. 616, 207 (1958)
33. CLARKE, P.M. u. P.E.E. TODD: Brit. J. Nutr. 11, 173 (1957)
34. COLLINS, F.D., R.M. LOVE u. R.A. MORTON: Biochem. J. 53, 629 (1953)
35. Commission on the nomenclature of biological chemistry: J. amer. chem. Soc. 82, 5575 (1960)
36. COURTOIS, J.E.: Bull. Soc. Chim. biol. 38, 295 (1956)
37. DEUEL, H.J., Jr., C. HENDICK, E. STRAUB, A. SANDOVAL, J.H. PINCKARD u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 14, 97 (1947)
38. --, C. JOHNSTON, E.R. MESERVE, A. POLGAR u. L. ZECHMEISTER: ibid. 7, 247 (1945)
39. --, --, E. SUMNER, A. POLGAR u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 5, 107 (1944)
40. --, --, --, W.A. SCHROEDER u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 5, 365 (1944)
41. --, E.R. MESERVE, C. JOHNSTON, A. POLGAR u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 7, 447 (1945)
42. --, --, A. SANDOVAL u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 10, 491 (1946)
43. --, E. SUMNER, C. JOHNSTON, A. POLGAR u. L. ZECHMEISTER: ibid. 6, 157 (1945)
44. DMITROVSKIJ, A.A.: Biochimija 26, 126 (1961); zit. nach S. FUTTERMAN: J. biol. Chem. 237, 677 (1962)
45. DORP, D.A. VAN u. J.F. ARENS: Nature 160, 189 (1947)
46. DOWLING, J.E.: Am. J. Clin. Nutrit. 9 (4) PT 2; 23 (1961)
47. --, u. G. WALD: Fed. Proc. 18, 217 (1959)
48. -- u. --: Vitamins Hormones 18, 515 (1960)

49. DOWLING, J.E. u. G. WALD: Proc. Intern. Congr. Biochem.,
4th Congr. Symposium XI, Vitamin Metabolism, Pergamon Press,
New York 1960, S. 185; zit. nach E.R. REDFEARN: Arch. Bio-
chem. 91, 226 (1960)
50. DRUMMOND, J.C., H.J. CHANNON u. K.H. COWARD: Biochem. J. 19,
1047 (1925)
51. EDISBURY, J.R., A.E. GILLAM, I.M. HEILBRON u. R.A. MORTON:
Biochem. J. 26, 1164 (1932)
52. EDISBURY, J.R., R.A. MORTON u. G.W. SIMPKINS: Nature 140,
234 (1937); zit. nach CAMA et al. Biochem. J. 52, 535 (1952)
53. EEKELEN, M., VAN, A. EMMERIE, H.W. JULIUS u. L.K. WOLFF:
Nature 132, 171 (1933)
54. ELDER, T.D. u. Y.J. TOPPER: Biochim. biophys. Acta 64, 430
(1962)
55. ELLENBERGER, H.A., N.B. GUERRANT u. M.E. CHILCOTE: J. Nutr.
37, 185 (1949)
56. EMBREE, N.D.: J. biol. Chem. 128, 187 (1939)
57. --, u. E.M. SHANTZ: J. biol. Chem. 132, 619 (1940)
- 57a. EUGSTER, C.H., C.F. GARBERS u. P. KARRER: Helv. 36, 1378 (1953)
58. EULER, B. VON, H. VON EULER u. H. HELLSTRÖM: Biochem. Z. 203,
370 (1928)
59. --, -- u. P. KARRER: Helv. 12, 278 (1929)
60. --, H. VON u. P. KARRER: Helv. 32, 461 (1949)
61. -- u. --: Helv. 33, 1481 (1950)
62. --, P. KARRER u. M. RYDBOM: Ber. dtsh. chem. Ges. 62, 2445
(1929)
63. --, -- u. U. SOLMSSEN: Helv. 21, 211 (1938)
64. --, -- u. O. WALKER: Helv. 15, 1507 (1932)
65. --, -- u. A. ZUBRYS: Helv. 17, 24 (1934)
66. FARRAR, K.R., J.C. HAMLET, H.B. HENBEST u. E.R.H. JONES: J.
chem. Soc. 2657 (1952)
67. FARRAR, K.R., H.B. HENBEST, J.C. HAMLET u. E.R.H. JONES: Chem.
and Ind. 49 (1951); zit. nach BAXTER: Fortschr. Ch. org.
Naturst. 2, 41 (1952)
68. FAZAKERLY, S. u. J. GLOVER: Biochem. J. 65, 38 P (1957)
69. FESTENSTEIN, G.N.: Ph. D. Thesis of Liverpool University,
1954
70. FIESER, L.F.: J. org. Chem. 15, 930 (1950)
71. FUTTERMAN, S.: J. biol. Chem. 237, 677 (1962)
72. GANGULY, J., N.I. KRINSKY u. H.J. DEUEL, JR.; zit. nach
GANGULY, MEHL, DEUEL: J. Nutr. 50, 59 (1953)
73. GANGULY, J., N.I. KRINSKY, J.H. PINCKARD: Arch. Biochem. bio-
phys. 60, 345 (1956)

74. GANGULY, J., N.I. KRINSKY, J.H. PINCKARD, H.J. DEUEL; Jr.: Z. physiol. Chem. 295, 61 (1953)
75. GANGULY, J., J.W. MEHL u. H.J. DEUEL, Jr.: J. Nutr. 50, 59 (1953)
76. GILLAM, A.E.: Biochem. J. 32, 1496 (1938)
77. GILLAM, A.E., M.S. EL RIDI: Biochem. J. 30, 1735 (1936)
78. GILLAM, A.E., I. HEILBRON, W.E. JONES u. E. LEDERER: Biochem. J. 32, 405 (1938)
79. GILLAM, A.E., M.S. EL RIDI u. S.K. KON: Biochem. J. 30, 1605 (1937)
80. GLOVER, J.: Vitamins Hormones 18, 371 (1960)
81. GLOVER, J., T.W. GOODWIN u. R.A. MORTON: Biochem. J. 43, 109 (1948)
82. GLOVER, J. u. E.R. REDFEARN: Biochem. J. 58, xv (1954)
- 82a. GOODMAN, D.S., H.S. HUANG: Science 149, 879 (1965)
83. GOODWIN, T.W.: Biochem. J. 63, 481 (1956)
84. GOODWIN, T.W., R.A. GREGORY: Biochem. J. 43, 505 (1948)
85. GOODWIN, T.W. u. M.M. TAHA: Biochem. J. 47, 244 (1950)
86. -- u. --: Biochem. J. 48, 513 (1951)
87. GRAHAM, W., D.A. VAN DORP u. J. F. ARENS: Rec. Trav. Chim. 68, 609 (1949)
88. GRANGAUD, M.R. u. P. CHARDENOT: C.R. Acad. Sci. 245, 2110 (1957)
89. GRANGAUD, M.R., P. CHARDENOT u. C. DEFAULT: C.R. Acad. Sci. 246, 2532 (1958)
90. GRANGAUD, R. u. R. MASSONET: C.R. Acad. Sci. 227, 568 (1948)
91. GRANGAUD, R. u. R. MASSONET: Bull. Soc. Chim. biol. 31, 231 (1949)
92. GRANGAUD, R. u. R. MASSONET: C.R. Acad. Sci. 230, 1319 (1950)
93. GRANGAUD, R. u. R. MASSONET: C.R. Acad. Sci. 241, 1087 (1955); Arch. Scand. Physiol. 2, 245 (1955)
94. GRANGAUD, R., R. MASSONET, T. CONQUY u. J. RIDOLFO: C.R. Acad. Sci. 253, 336 (1961)
95. GRANGAUD, R., R. MASSONET, T. CONQUY u. J. RIDFOLFO: C.R. Acad. Sci. 254, 579 (1962)
96. GRANGAUD, R. u. J.P. MOATTI: C.R. Soc. biol. 152, 1235 (1958)
97. GRANGAUD, R., P. VIGNAIS, R. MASSONET u. J.P. MOATTI: C.R. Acad. Sci. 243, 1170 (1956)
98. GRAY, E.L.B.: J. biol. Chem. 131, 317 (1939)
99. -- u. J.D. CAWLEY: J. biol. Chem. 134, 397 (1940)

100. GRESNERBERG, S.M., A. CHATTERJEE, C.E. CALBERT, H.J. DEUEL, Jr. u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 25, 61 (1950)
- 100a. GRESNERBERG, S.M., C.E. CALBERT, J.H. PINCKARD, H.J. DEUEL, Jr. u. L. ZECHMEISTER: Arch. Biochem. 24, 31 (1949)
101. GRIDGEMAN, N.T., R.F. HUNTER u. N.E. WILLIAMS: J. chem. Soc. 131 (1947)
102. GRIMBLEBY, F.H. u. D.J.G. BLACK: Brit. J. Nutr. 6, 393 (1952)
103. GUÉRILLOT-VINET, A., P. MEUNIER, J. JOUANNETEAU u. M. GOURE-VITCH: C.R. Acad. Sci. 226, 128 (1948)
104. GUEX, W.: F. Hoffmann-La Roche, Schweiz, Ann. 44880 (11. Mai 1949); zit. nach ISLER: Chimia 4, 103 (1950)
105. HAMANO, S.: Chem Zbl. 1, 2383 (1936); zit. nach ISLER: Chimia 4, 103 (1950)
106. HANZE, A.R., T.W. CONGER, E.C. WISE u. D.I. WEISBLAT: J. amer-chem. Soc. 70, 1253 (1948)
107. HARASHIMA, K., H. OKAZAKI u. H. AOKI: J. Vitaminol. 7, 150 (1961); zit. nach Y. MASE: ibid. 8, 15 (1962)
108. HARRIS, P.L., S.R. AMES u. J. H. BRINKMAN: J. amer. chem. Soc. 73, 1252 (1951)
109. HEILBRON, I.M., A.E. GILLAM u. R.A. MORTON: Biochem. J. 25, 1352 (1931); zit. nach CAMA et al.: Biochem. J. 52, 535 (1952)
110. HEILBRON, I.M., R.N. HESLOP, R.A. MORTON, E.T. WEBSTER, J.L. REA u. J.C. DRUMMOND: Biochem. J. 26, 1178 (1932)
- 110a. HEILBRON, I.M., E.R.H. JONES u. R.W. RICHARDSON: J. chem. Soc. 287 (1949)
- 110b. HEILBRON, I.M., E.R.H. JONES, D.G. LEWIS, B.C.L. WEEDON: J. chem. Soc. 2023 (1949)
111. HEILBRON, I.M. u. B. LYTTHGOE: J. chem. Soc. 1376 (1936)
112. HEILBRON, I.M., B. LYTTHGOE u. R.F. PHIEPERS: Nature 136, 989 (1935)
113. HEILBRON, I.M., R.A. MORTON u. E.T. WEBSTER: Biochem. J. 26, 1194 (1932)
114. HEJNO, K. in J. FRAGNER: Vitamine. I. Gustav Fischer Verlag, Jena 1964, S. 47
115. HEJNO, K. ibid. S. 226
116. HEJNO, K. ibid. S. 236
117. HEJNO, K. ibid. S. 283
- 117a. HEJNO, K. ibid. S. 294
118. HENBEST, H.B., E.R.H. JONES, T.C. OWEN u. V. THALLER: J. chem. Soc. 2763 (1955)
119. HERB, S.F., R.W. RIEMENSCHNEIDER, H. KAUNITZ u. C.A. SLANETZ: J. Nutr. 51, 393 (1953)

120. HOLMES, H.N. u. R.E. CORBET: J. amer. chem. Soc. 59, 2042 (1937)
121. HUBBARD, R.: J. amer. chem. Soc. 78, 4662 (1956)
122. HUBBARD, R., R.I. GREGERMAN u. G. WALD: J. gen. Physiol. 36, 415 (1953)
123. HUBBARD, R. u. G. WALD: Science 115, 60 (1952)
124. HUBBARD, R. u. G. WALD: J. gen. Physiol. 36, 269 (1952)
125. HUME, E.M.M.: Brit. J. Nutr. 5, 105 (1951)
126. HUNTER, R.F.: Nature 158, 257 (1946)
127. HUNTER, R.F. u. N.E. WILLIAMS: J. chem. Soc. 554 (1945)
128. INHOFFEN, H.H., F. BOHLMANN, K. BARTRAM, G. RUMMERT, H. POMMER, F. WESTPHAL u. C. LINHOFF: Liebigs- Ann. Chem. 570, 54 (1950)
129. ISLER, O.: Chimia 4, 103 (1950)
- 129a. ISLER, O., L.H. CHOPARD-DIT-JEAN, M. MONTAVON, R. RÜEGG, P. ZELLER: Helv. 40, 1256 (1957)
130. ISLER, O., W. HUBER, A. RONCO, M. KOFLER: Festschrift Emil Barell, Basel 1946, 31
131. ISLER, O., M. KOFLER, W. HUBER u. A. RONCO: Experientia 2, 31 (1946)
- 131a. ISLER, O., H. LINDLAR siehe 191
132. ISLER, O., A. RONCO, W. GUERX, N.C. HINDLEY, W. HUBER, K. DIALER u. M. KOFLER: Helv. 32, 489 (1949)
133. JENSEN, J.L., E.M. SHANTZ, N.D. EMBREE, J.D. CAWLEY u. P.L. HARRIS: J. biol. Chem. 149, 473 (1943)
134. JOHNSON, R.M. u. C.A. BAUMANN: Arch. Biochem. 14, 361, (1947)
135. JOHNSON, R.M. u. C.A. BAUMANN: Arch. Biochem. 19, 493 (1948)
136. JURKOWITZ, L.: Biochim. biophys. Acta 98, 337 (1962)
137. KAISER, E. u. B.M. KAGAN: Arch. Biochem. 63, 118 (1956)
138. KARMAKAR, G. u. L. ZECHMEISTER: J. amer. chem. Soc. 77, 55 (1955)
139. KARRER, P.: Fortschr. Ch. org. Naturst. 5, 1 (1948)
140. KARRER, P.: Helv. 34, 2160 (1951)
141. KARRER, P. u. J. BENZ: Helv. 31, 1048 (1948)
142. KARRER, P. u. E. BRETSCHER: Helv. 25, 1650 (1942)
143. --, --: Helv. 26, 1758 (1943)
- 143a. KARRER, P. C.H. EUGSTER: Helv. 38, 610 (1955)
- 143b. ibid. 1066
144. KARRER, P., H. VON EULER, H. HELLSTRÖM u. M. RYDBOM: Svensk Kem. Tidskr. 43, 105 (1931)

145. KARRER, P., A. GEIGER u. E. BRETSCHER: Helv. 24, 161 E (1941)
146. KARRER, P., A. HELFENSTEIN, H. WEHRLI, B. PIEPER u. R. MORF: Helv. 14, 614 (1931)
147. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 26, 626 (1943)
148. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 27, 1695 (1944)
149. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 27, 1585 (1944)
150. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 28, 427 (1945)
151. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 28, 717 (1945)
152. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 30, 536 (1947)
153. KARRER, P. u. E. JUCKER: Helv. 30, 559 (1947)
154. KARRER, P. u. E. JUCKER: Carotinoide. Verlag Birkhäuser, Basel 1948
155. KARRER, P. u. E. JUCKER: ibid. S. 244
156. KARRER, P., E. JUCKER, J. RUTSCHMANN u. K. STEINLIN: Helv. 28, 1146 (1945)
157. KARRER, P. u. R. MORF: Helv. 14, 833, 1033 (1931)
158. --, --: Helv. 16, 625 (1933)
159. --, -- u. K. SCHÖPP: Helv. 14, 1431 (1931)
160. --, -- u. --: Helv. 14, 1036 (1931)
161. KARRER, P. u. A. RÜEGGER: Helv. 23, 284 (1940)
- 161a. --, J. RUTSCHMANN: Helv. 29, 355 (1946)
162. KARRER, P. u. W. SCHLIENTZ: Helv. 17, 55 (1934)
163. KARRER, P. u. P. SCHNEIDER: Helv. 33, 38 (1950)
164. KARRER, P., K. SCHÖPP u. R. MORF: Helv. 15, 1158 (1932)
165. KARRER, P. u. R. SCHWYZER: Helv. 31, 1055 (1948)
166. KASCHER, H.M. u. J.G. BAXTER: Ind. eng. Chem. Anal. 17, 499 (1945)
167. KAUNITZ, H. u. C.A. SLANETZ: J. Nutr. 42, 375 (1950)
168. KEMMERER, A.R. u. G.S. FRAPS: Ind. eng. Chem. Anal. 13, 806 (1941); ibid. 15, 714 (1943)
169. KEMMERER, A.R. u. G.S. FRAPS: J. amer. chem. Soc. 66, 305 (1944)
170. --, --: Arch. Biochem. 8, 197 (1945)
171. --, --: J. biol. Chem. 161, 305 (1945)
172. --, --: Food Res. 10, 457 (1945)
173. KINOSHITA, J.H. u. T. MASURAT: Amer. J. Ophthal. 46, 42 (1958)
174. KIPPING, F.B. u. F. WILD: Chem. and Ind. 58, 802 (1939)

175. KOCH, W. u. D. KAPLAN: Int. Z. Vitaminforsch. 22, 15 (1950)
176. KOEHN, C.J.: Arch. Biochem. 17, 337 (1948)
177. KRISHNAMURTHY, S., J.G. BIERI u. E.L. ANDREWS: J. Nutr. 79, 503 (1963)
178. KUHN, R. u. H. BROCKMANN: Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 407 (1933)
179. --, --: Klin. Wschr. 12, 972 (1933)
180. KUHN, R., H. BROCKMANN, A. SCHEUNERT u. M. SCHIEBLICH: Z. physiol. Chem. 221, 129 (1933)
181. KUHN, R. u. CH. GRUNDMANN: Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 1746 (1933)
182. --, --: Ber. dtsh. chem. Ges. 67, 593 (1934)
183. KUHN, R. u. E. LEDERER: ibid. 64, 1349 (1931)
184. LANE, C.E.: Science 111, 471 (1950)
- 184a. LEDERER, E.: C.R. Acad. Sci. 197, 1694 (1933)
185. LEDERER, E.: C.R. Acad. Sci. 201, 300 (1935); zit. nach GANGULY et al.: Arch. Biochem. 60, 345 (1956)
186. LEDERER, E. u. T. MOORE: Nature 137, 996 (1936)
187. LEDERER, E. u. R. RATHMAN: Biochem. J. 32, 1252 (1938)
188. LEDERER, E. u. V.A. ROZANOVA: Biochimija 2, 293 (1937); zit. nach BAXTER: Fortschr. Ch. org. Naturst. 2, 41 (1952)
189. LEDERER, E., V.A. ROZANOVA, A.E. GILLAM u. I.M. HEILBRON: Nature 140, 233 (1937)
190. LE GALLIC, P.: C.r.Soc. biol. 142, 65 (1948)
191. LINDLAR, H., M. MONTAVON, R. RÜEGG, G. SAUCY u. P. ZELLER: Mitt. Lebensm.Unters.Hyg. 47, 183 (1956)
192. LOVERN, J.A., R.A. MORTON u. J. IRELAND: Biochem. J. 33, 325 (1939)
193. LOWE, J.S. u. R.A. MORTON: Biochem. J. 55, 681 (1953)
194. LOWE, J.S. u. R.A. MORTON: Vitamins Hormones 14, 102 (1956)
195. MAHADEVAN, S., S. KRISHNAMURTHY u. J. GANGULY: Arch.Biochem. 83, 371 (1959)
196. MAHADEVAN, S., S.K. MURTHY, S. KRISHNAMURTHY u. J. GANGULY: Biochem. J. 79, 416 (1961)
197. MAHADEVAN, S., P. SESHADRI SASTRY u. J. GANGULY: Biochem. J. 88, 531 (1963)
198. MAHADEVAN, S., P. SESHADRI SASTRY u. J. GANGULY: ibid. 88, 534 (1963)
199. MALATHI, P., K. SUBBA RAO, P. SESHARDT SASTRY u. J. GANGULY: Biochem. J. 87, 305 (1963)
200. MAN, T.J.DE, P.H. VAN LEEUWEN, J.R. ROBOG: Nature 201, 77 (1964)
201. MANLY, B.M., V. PETROW, O. STEPHENSON u. S.W.F. UNDERHILL: J. Pharm. Pharmacol. 4, 43 (1952)

202. MANN, T.E.: Analyst. 69, 34 (1944)
203. MARUSICH, W., E. DE RITTER u. J.C. BAUERNFEIND: J. Am. Oil Chemists' Soc. 34, 217 (1957)
204. MARUSICH, W., E. DE RITTER, J. VREMLAND u. R. KRUKAR: J. amer. chem. Soc. Meeting Sept. 1959; zit. nach GLOVER: Vitamins Hormones 18, 371 (1960)
205. MASE, Y.: J. Vitaminol. 8, 15 (1962)
206. MASSONET, R.: C.r.Soc.biol. 150, 170 (1956)
207. MASSONET, R., T. CONQUY u. R. GRANGAUD: C.r.Soc.biol. 155, 747 (1961)
208. MAYER, J. u. W.A. KREHL: J. Nutr. 35, 523 (1948)
209. MC GILLIVRAY, W.A.: Brit. J. Nutr. 15, 313 (1961)
210. MEAD, T.H., S.W.F. UNDERHILL u. K.H. COWARD: Biochem. J. 33, 589 (1939)
211. MEUNIER, P.: C.R. Acad. Sci. 227, 206 (1948)
212. MEUNIER, P.: Int. Z. Vitaminforschg. 23, 31 (1951)
213. MEUNIER, P., R. DULOU u. A. VINET: Bull. Soc. Chim. biol. 25, 371 (1943; C.R. Acad. Sci. 216, 907 (1943)
214. MEUNIER, P. u. R. FERRANDO: Bull. Soc. Chim. biol. 31, 227 (1949)
215. MEUNIER, P. u. J. JOUANNETEAU: Bull. Soc. Chim. biol. 30, 185 (1948)
216. MEUNIER, P., J. JOUANNETEAU u. G. ZWINGELSTEIN: C.R. Acad. Sci. 231, 1570 (1950)
217. MILAS, N.A.: Vitamins Hormones 5, 23 (1947)
218. MILAS, N.A.: Vitamins Hormones 5, 25 (1947)
219. MILAS, N.A.: in W.H. SEBRELL, Jr. u. R.S. HARRIS: The Vitamins I. Academic Press Inc., Publishers New York 1954, S. 50
220. MILAS, N.A., S.W. LEE, C. SCHUERCH, Jr., R.O. EDGERTON, J.T. PLATI, F.X. GROSSI, Z. WEISS u. M.A. CAMPBELL: J. amer. chem. Soc. 70, 1591 (1948)
221. MILAS, N.A., E. SAKAL, J.T. PLATI, J.T. RIVERS, J.K. GLADDING, F.X. GROSSI, Z. WEISS, M.A. CAMPBELL u. H.F. WRIGHT: J. amer. chem. Soc. 70, 1597 (1948)
222. MILLARD, E.B., Jr. u. W.S. MC CANN: J. Appl. Physiol. 1, 807 (1949)
223. MOORE, T.: Biochem. J. 24, 692 (1930)
224. MOORE, T.: ibid. 27, 898 (1933)
225. MOORE, T.: Symp. Nutr.; R.M. HERRIOT, Baltimore 1953, Johns Hopkins Press; zit. nach DOWLING: Am. J. Clin. Nutr. 2, 23 (1961)
226. MOORE, T.: Vitamin A. Elsevier Publ. Co., London 1957, S.117

227. MOORE, T.: *ibid.* S. 282
228. MORTON, R.A.: *Chem and Ind.* 59, 301 (1940)
229. MORTON, R.A.: *Vitamins Hormones* 18, 543 (1960)
230. MORTON, R.A. u. R.H. CREED: *Biochem. J.* 33, 318 (1939)
231. MORTON, R.A. u. T.W. GOODWIN: *Nature* 153, 405 (1944)
232. MORTON, R.A. u. T.W. GOODWIN: *Brit. Med. Bull.* 12, 37 (1956)
233. MORTON, R.A., M.K. SALAH u. A.L. STUBBS: *Nature* 159, 744 (1947)
234. MURRAY, T.K.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 111, 609 (1962)
235. MURRAY, T.K. u. J.A. CAMPBELL: *J. Pharm. Pharmacol.* 5, 596 (1953)
236. MURRAY, T.K. u. J.A. CAMPBELL: *Canad. J. Biochem.* 39, 1687 (1961)
237. NICHOLA, M. DE: *Biochem. J.* 56, 555 (1954)
238. *Nutr. Rev.*: 19, 334 (1961)
239. *Nutrition Reviews* 21, 238 (1963)
240. OLCOTT, H.S. u. D.C. MC CANN: *J. biol. Chem.* 94, 185 (1931)
241. OROSHNIK, W.: *J. amer. chem. Soc.* 67, 1627 (1945)
242. OROSHNIK, W.; zit. nach I.M. HEILBRON: *J. chem. Soc.* 386 (1948)
243. PATEL, S.M., J.W. MEHL u. H.J. DEUEL, Jr.: *Arch. Biochem.* 30, 103 (1951)
244. PAULING, L.: *Fortschr. Ch. org. Naturst.* 3, 203 (1939)
245. Permanent Commission on Biological Standardization: *League of Nations* 1934; *Quart. Bull. L.o.N.Hlth.Org.* 3, 428; zit. nach HUME: *Brit. J. Nutr.* 5, 105 (1951)
246. PETROW, V. u. O. STEPHENSON: *J. chem. Soc.* 1310 (1950)
247. PETZOLD, E.N., F.W. QUAKENBUSH u. M. MC QUISTAN: *Arch. Biochem. biophys.* 82, 117 (1959)
248. PLACK, P.A.: *Brit. J. Nutr.* 13, 111 (1959)
249. PLACK, P.A.: *Nature* 186, 234 (1960)
250. PLACK, P.A.: *Brit. J. Nutr.* 17, 243 (1963)
251. PLACK, P.A., S.Y. THOMPSON u. S.K. KON: *Biochem. J.* 68, 2 P (1958)
252. PLACK, P.A., S.K. KON u. S. Y. THOMPSON: *Biochem. J.* 71, 467 (1959)
253. PLACK, P.A., D. WOODHEAD u. P.M.J. WOODHEAD: *J. Mar. Biol. Assn. U.K.* 41, 345 (1961); zit. nach *Nutr. Rev.* 21, 345 (1963)

- 253a. POGGI, A.R., G. SERCHI: Rev. asoc. bioquim. argentina 14, 9 (1949); zit. nach A. DORNOW u. G. PETSCH: Arzneimittelforsch. 5, 305 (1955)
254. POLGAR, A. u. L. ZECHMEISTER: J. amer. chem. Soc. 64, 1856, 3071 (1942)
255. POLLARD, C.J. u. J.G. BIERI: Biochem. biophys. Acta 31, 558 (1959)
256. REDFEARN, E.R.: Ph. D. Thesis Liverpool University 1954
257. REDFEARN, E.R.: Arch. Biochem. 91, 226 (1960)
258. RETI, L.: C.r.Soc. Biol. 120, 577 (1935)
259. RITSERT, K.: Vitamine und Hormone 3, 57 (1943)
260. ROBESON, C.D. u. J.G. BAXTER: Science 92, 203 (1940)
261. ROBESON, C.D. u. J.G. BAXTER: J. amer. chem. Soc. 64, 2407 (1942)
262. ROBESON, C.D. u. J.G. BAXTER: J. amer. chem. Soc. 69, 136 (1947)
263. ROBESON, C.D., W.P. BLUM, J.M. DIETERLE, J.D. CAWLEY u. J.G. BAXTER: J. amer. chem. Soc. 77, 4120 (1955)
264. ROBESON, C.D., J.D. CAWLEY, L. WEISLER, M.H. STERN, C.C. EDDINGER u. A.J. CHECHAK: J. amer. chem. Soc. 77, 4111 (1955)
265. ROZANOVA, V.A.: Khim. Referat. Zhur. 4, 55 (1941); zit. nach SHANTZ et al.: J. biol. Chem. 183, 467 (1950)
266. ROSENBERG, A. u. A.E. SOBEL: Arch. Biochem. 44, 320 (1953)
267. RÜEGG, H., M. LINDLAR, M. MONTAVON, G. SAUCY, S.F. SCHÄEREN, U. SCHWIETER u. O. ISLER: Helv. 42, 847 (1959)
268. RÜEGG, R., M. MONTAVON, G. RYSER, G. SAUCY, U. SCHWIETER u. O. ISLER: Helv. 42, 854 (1959)
269. SCHARPENSEEL, H.W. u. G. WOLF: Fed. Proc. 17, 491 (1958)
270. SCHEUNERT, A. u. K.H. WAGNER: Z. physiol. Chem. 260, 272 (1939)
271. SCHWARZKOPF, O., H.J. CAHNMANN, A.D. LEWIS, J. SWIDINSKY u. H.M. WUEST: Abstr. 115th Meeting amer. chem. Soc., Calif. March 27. April 1, 11 C (1949); zit. nach K. HEJNO in J. FRAGNER: Die Vitamine, I, 283
272. SEXTON, E.L., J.W. MEHL u. H.J. DEUEL; JR.: J. Nutr. 31, 299 (1946)
273. SHANTZ, E.M.: Science 108, 417 (1948)
274. SHANTZ, E.M.: J. biol. Chem. 182, 515 (1950)
275. SHANTZ, E.M. u. J.H. BRINKMAN: J. biol. Chem. 183, 467 (1950)
276. SHANTZ, E.M., J.D. CAWLEY u. N.D. EMBREE: J. amer. chem. Soc. 65, 901 (1943)

277. SHANTZ, E.M., N.D. EMBREE, H.C. HODGE u. J.H. WILLS, Jr.: J. biol. Chem. 163, 455 (1946)
278. SHARMAN, I.M.: Brit. J. Nutr. 3, viii (1949)
279. STAINER, D.W., T.K. MURRAY u. J.A. CAMPBELL: Canad. J. Biochem. 38, 1219 (1960)
280. STEENBOCK, H., M.T. SELL, E.M. NELSON u. M.V. BUELL: J. biol. Chem. 46, Proc. XXXII (1921); zit. nach ZECHMEISTER: Vitamins Hormones 7, 57 (1949)
281. STRAIN, H.H.: Carnegie Inst. Wash. Pubs. 1938, No. 490; zit. nach ZECHMEISTER: Vitamins Hormones 7, 57 (1949)
282. STRAIN, H.H.: J. amer. chem. Soc. 63, 3448 (1941)
283. SUNDARESAN, P.R. u. H.R. CAMA: Brit. J. Nutr. 15, 225 (1961)
284. THOMPSON, J.N., J. MC HOWELL u. G.A. PITT: Biochem. J. 80, 16 P, 25 P (1961)
285. THOMPSON, J.N. u. G.A.J. PITT: Nature 188, 672 (1960)
286. TISCHER, A.O.: J. biol. Chem. 125, 475 (1938)
287. TISCHER, J.: Z. physiol. Chem. 251, 109 (1938)
288. TISCHER, J.: ibid 260, 257 (1939)
- 288a. TSCHARNER, C., C.H. EUGSTER u. P. KARRER: Helv. 41, 32, 1154 (1958)
289. VARMA, T.N.R. u. T.K. MURRAY: Biochim. biophys. Acta 78, 556 (1963)
290. WACKENRODER, :Geigers Magazin Pharm. 33, 141 (1831); Berzelius Jahresberichte 1833, 277; zit. nach FRAGNER: Die Vitamine, I. Gustav Fischer Verlag, Jena 1964, S. 196
291. WALD, G.: J. gen. Physiol. 19, 351 (1935)
292. WALD, G.: Nature 139, 1017 (1937)
293. WALD, G.: Biochim. biophys. Acta 4, 215 (1950)
294. WALD, G.: Amer. J. OPHTHAL. 40, 18 (1955)
295. WALD, G., P.K. BROWN, R. HUBBARD u. W. OROSHNIK: Proc. nat. Acad. Sci., Wash. 41, 438 (1955); zit. nach BROWN et al.: J. biol. Chem. 222, 865 (1956)
296. WALD, G., P.K. BROWN u. P.H. SMITH: J. gen. Physiol. 38, 623 (1954-55)
297. WALD, G. u. S.P. BURG: Fed. Proc. 14, 300 (1955)
298. WEISER, H.: Biochem. Biophys. Res. Comm. 14, 183 (1964)
299. WENDLER, N.L., C. ROSENBLUM u. M. TISHLER: J. amer. chem. Soc. 72, 234 (1950)
300. WIESE, C.E., J.W. MEHL u. H.J. DEUEL, Jr.: Arch. Biochem. 15, 75 (1947)

301. WILKINSON, H.: Biochem. J. 35, 824 (1941)
302. WILT, F.H.: Develop. Biol. 1, 199 (1959)
303. WINTERSTEIN, A. u. B. HEGEDÜS: Z. physiol. Chem. 321, 97 (1960)
304. WINTERSTEIN, A. u. O. ISLER: zit. nach GLOVER: Vitamins Hormones 18, 371 (1960)
305. WITH, T.K.: Int. Z. Vitaminforsch. 17, 88 (1946)
306. WITH, T.K. u. O. WANSCHER: Vitamine und Hormone 4, 341 (1943)
307. WOLF, G. u. B.C. JOHNSON: Vitamins Hormones 18, 403 (1960)
308. WOLF, G., S.G. KAHN u. B.C. JOHNSON: J. amer. chem. Soc. 79, 1208 (1957)
309. WORKER, N.A.: Brit. J. Nutr. 10, 169 (1956); *ibid.* 11, 44 13, 400 (1959)
310. World Health Organization: Expert Committee on the Biological Standardization 1949. Report on the Subcommittee on Fatsoluble Vitamins. WHO/BS/65 Rev. 1; zit. nach HUME: Brit. J. Nutr. 5, 105 (51)
311. YAMAMOTO, R. u. S. TIN: Sci. Pap. Inst. physic. chem. Res. 20, 411 (1933), Chem. Zbl. I (1933)
312. ZACHMAN, R.D. u. J.A. OLESON: J. biol. Chem. 238, 541 (1963)
313. ZECHMEISTER, L.: Chem. Revs. 34, 267 (1944)
314. --: Vitamins Hormones 7, 57 (1949)
315. --, H.J. DEUEL, Jr., H.H. INHOFFEN, J. LEEMANN, S.M. GREENBERG u. J. GANGULY: Arch. Biochem. biophys. 36, 80 (1952)
316. ZECHMEISTER, L. u. R.B. ESCUE: J. biol. Chem. 144, 321 (1942)
317. ZECHMEISTER, L. u. R.M. LEMMON: J. amer. chem. Soc. 66, 317 (1944)
318. ZECHMEISTER, L., A.L. LE ROSEN, W.A. SCHROEDER, A. POLGAR u. L. PAULING: J. amer. chem. Soc. 65, 1940 (1943)
319. ZECHMEISTER, L. u. J.J. PETRACEK: Arch. Biochem. biophys. 61, 243 (1956)
320. ZECHMEISTER, L. u. J.H. PINCKARD: J. amer. chem. Soc. 69, 1930 (1947)
321. ZECHMEISTER, L., J.H. PINCKARD, S.M. GREENBERG, E. STRAUB, T. FUKUI u. H.J. DEUEL, Jr.: Arch. Biochem. 23, 239 (1949)
322. ZECHMEISTER, L. u. A. POLGAR: J. amer. chem. Soc. 66, 137 (1944)
323. ZECHMEISTER, L. u. A. POLGAR: J. amer. chem. Soc. 67, 108 (1945)
324. ZECHMEISTER, L. u. W.A. SCHROEDER: J. biol. Chem. 64, 1173 (1942)

- 325. ZECHMEISTER, L. u. J.W. SEASE: J. amer. chem. Soc. 65,
1951 (1943)
- 326. ZECHMEISTER, L. u. P. TUZSON: Biochem. J. 32, 1305 (1938)
- 327. ZECHMEISTER, L. u. L. WALLCAVE: Abstr. amer. chem. Soc.
123rd Meeting 37 C (Los Angeles Calif., März 1953); zit.
nach QUAIFFE: Ann. Rev. Biochem. 23, 215 (1954)
- 328. ZIMA, O. u. R.R. WILLIAMS: Ber. dtsh. chem. Ges. 73,
941 (1940)

Vitamin-B₁-wirksame (thiamin-wirksame) Substanzen

A. Allgemeiner Teil

Die vollständige Aufklärung der Thiaminstruktur (Abb. 29) durch CLINE und WILLIAMS (23, 131) im Jahre 1936 zog auch die Frage nach sich, inwieweit die Vitaminaktivität durch Einzelheiten im Molekülbau bedingt ist.

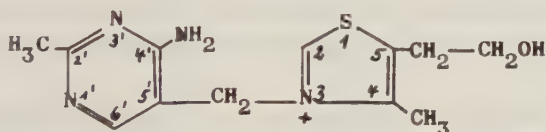


Abb. 29: Thiamin

Die ersten synthetischen Thiamin-Verwandten erwiesen sich in biologischen Versuchen als inaktiv. Es handelte sich dabei um Verbindungen, in denen die 4'-ständige NH₂-Gruppe entweder fehlte (14) oder durch -OH ersetzt war (9, 19), in denen die Methylenbrücke (123) oder die Seitenkette des Thiazolrings fehlte (9) oder in die in 2-Stellung eine weitere Methylgruppe eingeführt war (9). Auf Grund der Wirkungslosigkeit dieser Analoga kam LAQUER (66) ebenso wie SCHMELKES (103) zu der Auffassung, daß sich das antineuritische Vitamin durch strenge Spezifität gegenüber den anderen auszeichnete. STEPP u. M. (112) faßten die bis dahin veröffentlichten experimentellen Ergebnisse sehr eindeutig zusammen: "Es gibt nur ein Vitamin B₁ in der Natur. Auch auf synthetischem Wege ist es bisher nicht gelungen, voll-wirksame Analoga oder Derivate des Aneurins zu erhalten; schon kleinste Abwandlungen des Aneurin-Moleküls bedingen weitgehenden oder völligen Verlust der biologischen Wirksamkeit".

1940 jedoch untersuchte SCHULTZ (106) 39 Homologe und Analoge des Thiamins im kurativen Taubentest und bewies, daß die Vitamin-B₁-Wirkung nicht nur auf einen einzigen Stoff beschränkt ist,

sondern einer Reihe chemisch verwandter Verbindungen zukommt. Er (106, 107) betonte aber, daß bei der Beurteilung der antineuritischen Wirksamkeit einer Substanz Vorsicht geboten sei, da neben den Stoffen mit wirklichem Vitamincharakter auch solche bekannt wären, die durch Mobilisierung der im Gewebe vorhandenen Thiaminreserven nur pseudoantineuritische Wirkung besitzen. Die in der Literatur berichteten, teilweise von den Autoren selbst später widerrufenen antineuritischen Eigenschaften von Oxy-pyridinen, Dioxychinolin, Glyoxalin-Derivaten, Adenin, Histamin und Thyroxin dürften sich wohl auf eine solche kurzfristige Heilung der Beriberi durch freigesetztes Gewebethiamin gegründet haben (107).

Obwohl die antineuritische Wirksamkeit also nicht auf eine einzige Verbindung beschränkt ist, ist die Strukturspezifität des Thiamins groß. Die Entdeckung von Substanzen mit noch größerer Vitaminwirksamkeit, als sie das Thiamin besitzt, widerspricht dem nicht. Verbindungen dieser Art verdanken ihre höhere Vitaminwirksamkeit besseren physikalischen Eigenschaften. Leichtere Absorption aus dem Darm und Resistenz gegen thiaminzerstörende Thiaminasen (24) sorgen für bessere Ausnutzung einer verabreichten Dosis, gutes Eindringungsvermögen in die Gewebe für anhaltendere Wirkung. Sie üben ihre Wirkung nicht per se aus, sondern nach Umwandlung über die aktive Thiolform in Thiamin. Modifikationen des Thiaminmoleküls bedeuten dann einen Verlust an Aktivität, wenn die modifizierte Verbindung vom Organismus nicht in Thiamin umgewandelt werden kann (54).

Bevor auf die Beziehungen zwischen Struktur und Wirksamkeit des Thiaminmoleküls eingegangen wird, seien die Bedeutung und das Verhalten der drei Phosphorsäureester des Vitamins in seinem Stoffwechsel kurz erläutert. Thiamin beteiligt sich in Form des Diphosphorsäureesters als Coenzym an der oxydativen und nicht-oxydativen Decarboxylierung im Stoffwechsel auftretender α -Ketosäuren (17, 48, 87, 92). Unter bestimmten Umständen katalysiert es auch als Cofaktor die Bildung von Acetoin aus Brenztraubensäure. Einzelheiten über den Decarboxylierungsvorgang verdanken

wir in erster Linie den Arbeiten BRESLOWS (15, 18), der das Thiaminpyrophosphat als Überträger des "aktiven Acetaldehyds" identifizierte und den Reaktionsablauf zu formulieren vermochte (Abb. 30) (17).

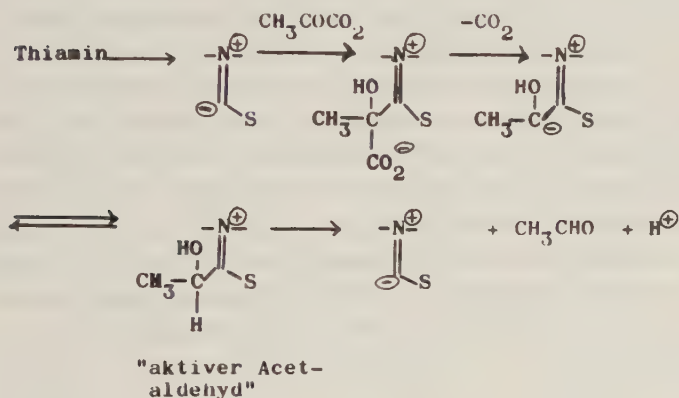


Abb. 30: Thiaminpyrophosphat als Überträger des "aktiven Acetaldehyds"

LOHMANN u. SCHUSTER (70) isolierten die Cocarboxylase 1937 aus Bierhefe. Ihr Cocarboxylase-Präparat steigerte mit Brenztraubensäure als Substrat die Atmung von Gehirnabschnitten beriberi-kranker Tauben in derselben Weise wie Thiamin. Dagegen erwies es sich im curativen Taubentest bei subcutaner Injektion weniger wirksam als das Vitamin. Auch SCHULTZ (106) fand das Thiaminpyrophosphat in der minimalen Heildosis weniger wirksam, jedoch zeigte eine einzige Dosis von 10 mg eine anhaltendere Heilwirkung als Thiamin. Er erklärte die protrahierte Wirkung damit, daß der Ester, bevor er seine eigentliche antineuritische Funktion ausüben könnte, verseift werden mußte. Neben der biologischen Wirksamkeit des Pyrophosphorsäureesters interessierte auch die

des Mono- bzw. Triphosphats. Während ZIMA u. M. (143) dem Monophosphat schwache, aber noch deutliche Wirksamkeit (0.4 %) zuschrieben, stellten LOHMANN u. M. (69) ebenso wie KARRER u. M. (51) und DE LA FUENTE u. M. (29) keine Cocarboxylaseaktivität bei dieser Substanz fest.

Auch über die Cocarboxylase-Wirksamkeit des Thiamintriphosphorsäureesters bestehen in der Literatur widersprechende Angaben. VELLUZ u. M. (126) ermittelten für diesen Ester 80 % der Cocarboxylase-Aktivität; SILIPRANDI u. M. (110) u. KARRER u. M. (128) fanden ihn sogar ebenso wirksam wie das Coenzym. Dagegen konnten DE LA FUENTE u. M. (29) mit papierchromatographisch getrenntem Triphosphat keine Wirksamkeit als Cocarboxylase feststellen. Sie führten die sehr verschiedenen Ergebnisse darauf zurück, daß das bei der Synthese entstehende Gemisch aller drei Ester nur schwer zu trennen sei und die früher untersuchten Triphosphat-Präparate aktive Cocarboxylase-Unreinheiten enthalten hätten.

B. Spezieller Teil

I. Änderung der Substituenten des Pyrimidinringes

Die Methylengruppe in 2'-Stellung des Pyrimidinkernes erwies sich als nicht streng spezifisch. Durch Verlängerung des Methylradikals zum Äthyl- erhielt SCHULTZ (106, 107) das 2'-Äthylthiamin, das sich bei einer Dosierung von 40 μ g im kurativen Taubentest als mindestens ebenso wirksam erwies wie Thiamin, ihm in der durchschnittlichen Überlebensdauer der Versuchstiere sogar um drei Tage überlegen war. Eine interessante Parallele lieferte die Arbeit von SCHOPFER (104), der mit dem Äthylanalogen des Thiamins bei *Phycomyces blakesleeana* und *Ustilago violacea* eine größere Wachstumswirkung erreichte als mit dem Vitamin selbst. STEIN u. M. (111) fanden die 2'-Äthylverbindung im kura-

tiven wie im prophylaktischen Test an Ratten ebenso wirksam wie Thiamin. Das 2'-Propyl- und das 2'-Isopropylanaloge zeigten an beriberikranken Tauben nur noch ein Drittel der Thiaminaktivität (106, 107). Obwohl das 2'-Propylthiamin den Thiaminmangel sehr schnell beseitigen konnte, gelang es nicht, die Tiere länger als maximal drei Wochen nach der Heilung am Leben zu erhalten, während sie bei Thiaminzufuhr 41 Tage lebten. Dagegen fehlte dem 2'-Butylderivat nicht nur alle Vitaminaktivität, sondern es besaß sogar, wie EMERSON u. M. (27) zeigten, durch kompetitive Hemmung des Thiamins die Eigenschaften eines Antivitamins. Das Derivat ohne Alkylgruppe in 2'-Position behielt nur 5 % der biologischen Aktivität des Thiamins (106).

Die Unentbehrlichkeit der 4'-ständigen Aminogruppe zeigte sich darin, daß bei ihrer Methylierung eine Verbindung mit nur 0.5 % der Thiaminwirkung im Taubentest entstand (106).

Unter den von SCHULTZ (106) getesteten Verbindungen befand sich auch das in 6'-Stellung substituierte Methylthiamin, welches seine Vitaminwirksamkeit an Vitamin-B₁-Mangeltauben erst in 800 fach erhöhter Thiamin-Heildosis entfalten konnte. BIGGS u. M. (11) prüften sein Verhalten in der nicht enzymatischen Umwandlung von Brenztraubensäure und Acetaldehyd ----> Acetoin und CO₂. Dabei zeigte es 18 % der von Thiamin unter gleichen Bedingungen entwickelten Aktivität.

II. Änderung der Methylenbrücke

Eine Verlängerung der Methylenbrücke zwischen Pyrimidin- und Thiazolring zur Äthylenbrücke schwächte die Thiaminwirksamkeit der neuen Substanz im Taubentest bis auf 1.25 % ab (106). Im nicht-enzymatischen Umwandlungsprozess der Brenztraubensäure und Acetaldehyd in Acetoin und CO₂ konnte sie jedoch 67 % der Katalysator-Funktion des Thiamins übernehmen (10). Im mikrobiologischen Test mit *Kloeckera brevis* zeigte sie keine Vitaminwirksamkeit (10).

III. Änderung der Substituenten des Thiazolrings und beider Ringsysteme

Ähnlich wie im Pyrimidinring des Thiamins ist auch die Methylgruppe in 4-Stellung des Thiazolrings für die antineuritische Wirksamkeit nicht streng spezifisch. Das nächst-höhere Homologe 4-Äthylthiamin besaß im kurativen Taubentest 50 % der Thiaminwirksamkeit, das Propylhomologe nur noch 2.7 % (106). Die 4'-Äthyl,4-Äthyl-Verbindung zeigte die gleiche biologische Aktivität wie die allein in 4-Position des Thiazolrings äthylierte Substanz (106). Das 4'-Äthyl,4-Propyl-Homologe besaß nur 1.4 % der Thiaminwirksamkeit (106). Das Derivat ohne 4-ständige Methylgruppe behielt 1.2 % der Vitaminwirksamkeit (106).

Unentbehrlich dagegen erwies sich die Hydroxylgruppe der am C-Atom 5 angehängten Seitenkette, weil durch sie die Veresterung mit der Pyrophosphorsäure zur Bildung von Cocarboxylase stattfindet (20, 21). Die von SCHULTZ (106) im Taubentest untersuchte Verbindung, die statt der OH-Gruppe ein Chloratom enthielt, zeigte noch 0.3 % Wirksamkeit. PRICE u. M. (99) erhielten bei Einführung von Amino- bzw. Cyano-Gruppen an ihre Stelle inaktive Substanzen.

DORNOW u. HARGESHEIMER (26) modifizierten die 5-ständige Seitenkette zum Glykol, führten in 2'-Stellung das Butylradikal ein oder ersetzten gleichzeitig die 4'-ständige Amino-Gruppe durch eine Hydroxy-Gruppe. Die entstandenen Verbindungen erhielten die Bezeichnungen Butylthiaminglykol und Butyloxythiaminglykol. SCHEUNERT u. M. (102) ermittelten im Phycomyces-Test eine sehr schwache Vitaminwirksamkeit von 1/10 000 bzw. 1/20 000. Im Taubentest erwies sich das Butylthiaminglykol in der 60 - 100 fachen Menge der kurativen Thiamindosis als unwirksam, während Butyloxythiaminglykol in der 200 fachen Heildosis schwache Thiaminwirkung bewies.

Das von MATSUKAWA u. M. (74) als Präzipitat aus einer alkalischen Thiaminlösung gewonnene Thiothiamin stellt eine Verbindung mit

Schwefel-Substituent am C₂-Atom des Thiazolrings dar (Abb. 31).

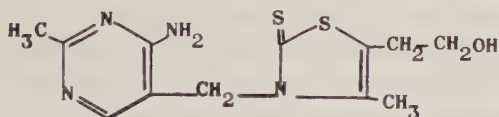


Abb. 31: Thiothiamin

Bei dem von ZIMA u. M. (143) aus den Hitzezerfallsprodukten von Thiamindisulfid präparierten Oxothiamin handelt es sich um die entsprechende Sauerstoffverbindung. Beide Substanzen wurden zunächst als vitaminwirksam angesehen (74, 91, 108), jedoch konnte in späteren Experimenten (113, 115) weder bei Ratten noch bei Mikroorganismen Thiaminwirksamkeit festgestellt werden.

1936 beschrieben LIPMANN u. M. (68) die Darstellung von Dihydrothiamin durch Reduktion des Thiamins mit Natriumdithionit und stellten die Hypothese auf, daß die Funktion des Thiamins als Biokatalysator mit der Bildung eines Redoxsystems Thiamin $\rightleftharpoons$ Dihydrothiamin (DHT) zusammenhinge (Abb. 32).

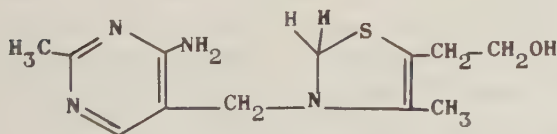


Abb. 32: Dihydrothiamin

9 Jahre später wiesen KARRER u. M. (49) nach, daß Na₂S₂O₄ entgegen dem Ergebnis von LIPMANN Thiamin nicht in DHT überführte,

sondern das Vitaminmolekül in seine beiden Komponenten spaltete. 1950 (50) konnten sie das Dihydrothiamin durch Reduktion des Thiamins mit Lithiumaluminiumhydrid rein erhalten. Im Bradykardietest mit Ratten besaß das Präparat ca. 15 mal geringere Wirksamkeit als das Thiamin. Nach diesen Untersuchungen erschien es unwahrscheinlich, daß die Wirkung des Vitamins B₁ an die Existenz eines Redox-Systems gebunden ist, da DHT in einem solchen Fall die gleiche Wirkungsintensität hätte haben müssen wie Thiamin. Auch im mikrobiologischen Test mit thiaminheterotrophen Bakterien, Hefen und Pilzen entfaltete die reduzierte Form nur wenig Wirksamkeit als Wachstumsstoff; dagegen zeigte es sich in einer Wurzelkultur von Pisum dem Thiamin ebenbürtig. Die Verfasser (105) sahen darin unterschiedliche Fähigkeit der Zellen zur Reoxydation des DHT.

IV. Änderung der Ringsysteme

DORNOW u. HARGESHEIMER (25) ersetzten den Pyrimidinring des Thiamins durch einen Pyridinring. Diese Verbindung besaß im mikrobiologischen Test an *Lactobacillus fermenti* 1/5 000 der Wirksamkeit des Thiamins. Ein analoger Austausch des Thiazolrings hatte die Entstehung von Pyrithiamin zur Folge, das ein kräftiges Antivitamin darstellt (101).

V. Änderungen am Thiazol-Schwefel

1. Symmetrische Thiamin-Disulfidverbindungen

Durch Oxydation des Thiamins in alkalischer Lösung mit Jod stellten ZIMA u. M. (143) 1940 erstmals das Disulfid des Thiamins (TDS) dar. Dabei bildete sich das Disulfid aus 2 Molekülen Thiamin über die Zwischenprodukte Thiaminpseudobase und Thiol-Thiamin (Abb. 33)

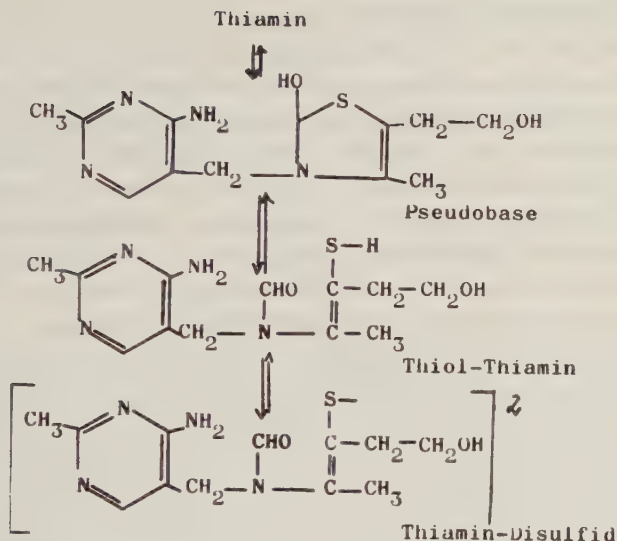


Abb. 33: Bildung von Thiamin-Disulfid

Durch geeignete Reduktionsmittel, auch physiologische wie Glutathion und Cystein, ließ sich das Disulfid quantitativ zu Thiamin bzw. zur Thiolform reduzieren (142), so daß ZIMA u. M. (142) zu der Ansicht kamen, Thiamin übe seine biologische Wirksamkeit als reduzierter Partner des TDS in einem Redoxsystem aus. Tatsächlich konnte FELLEBERG (28) kleine Mengen TDS in der Kartoffel *Centifolia*, in Grünkohl und in 7 Stunden lang autolysierter Preßhefe nachweisen. MARTEN (71) fand TDS neben anderen Thiaminderivaten mit einsetzender Keimung in Pflanzensamen, die im Ruhezustand nur Thiamin enthielten. Besonders reich schienen ihm die Orte intensiven Wachstums, Sproß- und Wurzelspitze, zu sein. Dagegen konnte KAWASAKI (54) kein TDS in Pflanzen nachweisen. Er räumte allerdings ein, daß ihm neben Thiamin vor-

handene kleine Mengen TDS durch Reduktion beim Extrahieren des Thiamins entgangen sein könnten.

Während ICHIDA (41) in tierischen Geweben vergeblich nach TDS oder thiamin-oxydierenden Fermenten suchte, gelang es MARTEN (72), TDS in allen Körperorganen nachzuweisen. BONVICINO u. M. (13) berichteten, daß von allen untersuchten Geweben des Hundes das Herz den höchsten Gehalt an oxydiertem Thiamin gezeigt habe. YASUDA (134) entdeckte im menschlichen Speichel ein enzymatisches Prinzip, das bei pH 7 einen Teil des aufgenommenen Thiamins zu TDS oxydierte. MARTEN (72) sowie IOCONO u. M. (43) identifizierten TDS im Harn des Menschen bzw. der Ratte.

Angeregt durch Arbeiten von HARLAND u. M. (37), die in auf 70° erhitzter Milch TDS-reduziernde Substanzen nachwiesen, zeigten BONVICINO u. M. (12), daß zwar ein Teil des TDS durch hitzedenaturiertes Milch- oder Eieiweiß zu Thiamin reduziert wurde, ein Teil jedoch mit den sulfhydrylhaltigen Proteinen einen thiochrom-negativen, nicht-dialysierbaren Protein-Thiaminkomplex bildete. Bei Verfütterung an Ratten besaß der Thiamin-Eiweiß-Komplex ungefähr 90 % Thiaminaktivität.

ZIMA u. M. (143) ermittelten bei der ersten Untersuchung der antineuritischen Wirksamkeit des TDS einen Wert von 60 - 70 % derjenigen des Thiamins. Ihre spätere Nachprüfung des Ergebnisses (142) ergab jedoch, daß das TDS sowohl im Heilversuch an Tauben als auch im Gewichtstest an Ratten bei subkutaner und oraler Verabreichung gleiche Wirksamkeit besaß wie Thiamin. Der ursprüngliche, niedrigere Wert wurde auf die Verwendung des freien Disulfids zurückgeführt, welches in wässrigen Lösungen wahrscheinlich weniger beständig war als das später benutzte salzsaure Disulfid (142). PETERS (96) fand, daß das TDS im Catatorulin-Test (95) am Gehirn thiamin-defizienter Tauben wenigstens ebenso wirksam war wie das Vitamin selbst. Die biologische Gleichwertigkeit des Thiamins und seiner Disulfidform wurde von einer Reihe Autoren (13, 97, 98, 118, 140) bestätigt. Überdies ergaben sich für das physiologische Verhalten des TDS einige Besonder-

heiten. Während nach intravenöser Injektion von Thiamin der Vitamin-B₁-Blutspiegel schnell anstieg und schnell wieder absank, blieb er nach i.v.-Verabreichung von TDS längere Zeit erhöht (142). ZIMA u. M. (142) berichteten, daß das injizierte TDS sehr schnell in die aktiven Formen Thiamin-Pseudobase und Thiol-Thiamin überführt wurde. MARTEN beobachtete (71), daß sich sofort nach der Injektion zwischen Thiamin und TDS ein Gleichgewicht einstellte, welches auch bei Abnahme des Gesamtthiamins im Blut konstant blieb. TDS normalisierte ebenso schnell wie Thiamin den Cocarboxylasespiegel der Leber thiamindefizienter Ratten. Jedoch zeigte sich 24 Stunden später die Cocarboxylasekonzentration nach TDS-Injektion immer höher als nach Injektion von Thiamin (97). PETRELLI u. M. (97) sahen die Ursache dazu in einer leichteren Speicherung des TDS im Gewebe. Da nach oraler Gabe von TDS die Thiaminausscheidung im Harn leicht größer war, als man sie nach oraler Gabe äquivalenter Mengen Thiamin beobachtete, wurde daran gedacht, daß das Disulfid-Molekül entweder im alkalischen Milieu des Darmes widerstandsfähiger oder seine Absorption besser sei (140).

In pharmakologischen Tests entfaltete es durch geringere Toxizität (141, 142), höhere analgetische Effekte über lange Zeit und antiphlogistische Wirkung bei Verbrennungen durch U.V.-Strahlen günstigere Eigenschaften als das Vitamin (141).

In der Wachstumswirkung auf *Lb. fermenti* 36 zeigte sich TDS dem Thiamin überlegen, wenn der als Nährboden dienenden Fleischbrühe genügend Cystein zugesetzt wurde (6). Es war ebenso wirksam wie Thiamin, wenn statt Cystein Ascorbin- oder Isoascorbinsäure zugegeben wurde (8). Da TDS in einem cysteinfreien Grundmedium das Wachstum von *Lb. fermenti* 36 nicht unterhalten konnte und erst der Zusatz hoher Konzentrationen der reduzierenden Amino- oder Ascorbinsäure das TDS zu einem vollwertigen Wachstumsfaktor für das Bakterium machte, nahm BANHIDI (6) an, daß TDS seine biologische Wirksamkeit als Vitamin B₁ erst durch Umwandlung in die Thiolform oder einen für den Mikroorganismus verfügbaren Thiamin-Cystein-Komplex (80) erhielt. Der Befund dieses Experi-

mentes wurde auch zur Erläuterung der TDS-Wirkung im Säugetier-Organismus herangezogen. In einem weiteren Versuch zeigte BAN-HIDI (8), daß subminimale Dosen des TDS das Wachstum junger Ratten nur sehr wenig stimulierten, daß sie jedoch nach Zugabe von Ascorbinsäure zur Kost dieselbe Wachstumswirkung erzeugten wie Thiamin.

Ester des Thiamin-Disulfid

Im Zusammenhang mit der Idee eines Redoxsystems Thiamin $\rightleftharpoons$ Thiamin-Disulfid (143) interessierte besonders das TDS-pyrophosphat oder Cocarboxylase-Disulfid. Tatsächlich gelang es einigen Wissenschaftlern (35, 89, 114) diesen Ester des TDS in Bäckerhefe nachzuweisen. Außerdem konnte er durch Oxydation der Cocarboxylase synthetisiert werden (51, 90, 96, 139). Die Prüfung seiner biologischen Aktivität in der Warburg-Apparatur brachte ein damals überraschendes Ergebnis: TDS-pyrophosphat besaß keine Cocarboxylasewirksamkeit (51, 96). Erst die Zugabe von SH-Verbindungen vermochte das Präparat durch Reduktion zu reaktivieren. Aus diesen Ergebnissen schlossen KARRER u. M. (51), daß Vitamin B₁ in der lebenden Zelle nicht an einem Redoxsystem beteiligt ist. Mehrere Jahre später prüften ZIMA u. M. (140) erneut die Cocarboxylase-Aktivität des TDS-pyrophosphats im Warburg-Test und ermittelten auf einmal, daß es etwas weniger wirksam war als Cocarboxylase. Demgegenüber zeigten Experimente von GREGOLIN u. M. (35), daß es als Coenzym sowohl bei der oxydativen als auch bei der nicht-oxydativen Decarboxylation unwirksam ist und erst nach Reduktion mit Cystein oder Glutathion Cocarboxylasefunktion übernimmt. Auch HOLT u. M. (39) wiesen nach, daß Weizenkeim-Apocicarboxylase und Cocarboxylase-Disulfid kein funktionstüchtiges Enzym bilden. Dagegen konnte Cocarboxylase-Disulfid im Leberhomogenat B₁-avitaminotischer Ratten in hohem Maß Thiaminpyrophosphatwirkung ausüben. Die Verfasser vermuteten, daß nicht das TDS-pyrophosphat per se wirksam ist, sondern daß es vielmehr durch ein im Leberhomogenat vorhandenes

reduzierendes Agens in Cocarboxylase überführt wird.

In der Literatur sind zwei weitere Ester des TDS erwähnt: TDS-phosphat (140) und Benzoyl-TDS (59). Beide erwiesen sich bei Ratten und Hunden (22, 140) als thiaminwirksam, wenngleich die Absorption von TDS-phosphat bei Hunden geringer zu sein schien als die von TDS. Bei i.p.-Verabreichung an Hunde oder Kaninchen erzeugte TDS-phosphat deutlichere Hypoglykämie als Thiamin oder TDS (140).

2. Asymmetrische Thiamin-Disulfidverbindungen

Allithiamin und Thiamin-propyl-disulfid (TPD)

1952 entdeckten FUJIWARA u. WATANABE (33) bei ihrer Arbeit mit thiamin-inaktivierenden Faktoren in Pflanzen, daß ein Extrakt aus zu Brei verarbeitetem rohen Knoblauch das Thiamin in eine neue thiochrom-negative und doch vitamin-wirksame Verbindung umwandelte. Der gleiche Vorgang konnte beobachtet werden, wenn andere Allium-Zwiebeln bei pH 8 mit Thiamin zusammengegeben wurden (75). Bei Verwendung gekochter Zwiebeln fand die Umwandlung nicht statt (34). MATSUKAWA u. M. (79) gelang es, die unbekannte Substanz kristallin zu gewinnen und ihre chemische Konstitution sowie ihre Entstehungsweise aufzuklären. In dem Knoblauchzwiebelbrei verband sich das im Knoblauch anwesende Allicin mit Thiamin zu einer neuen Verbindung, die den Namen Allithiamin oder Thiamin-allyl-disulfid erhielt (Abb. 34).

KAWASAKI (54) beschrieb das Allithiamin als Kunstprodukt, da es in situ nicht im Knoblauch enthalten war, Thiamin sich dagegen im Säureextrakt aus Knoblauchzwiebeln nachweisen ließ (124).

Neben Allithiamin bildete sich im Knoblauchbrei auch Thiamin-propyldisulfid (Abb. 35), das 1954 als erstes modifiziertes Thiamin auf dem japanischen Markt erschien (54, 82). Da sich die beiden Substanzen in chemischen und biologischen Experi-

menten ähnlich verhielten, sollen sie im Folgenden gemeinsam besprochen werden.

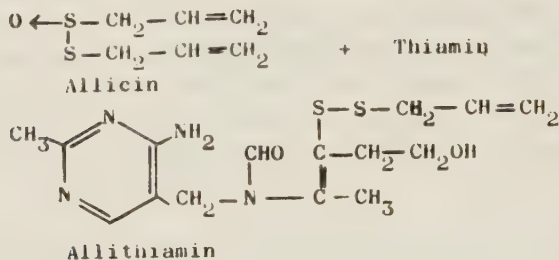


Abb. 34: Bildung von Allithiamin (54)

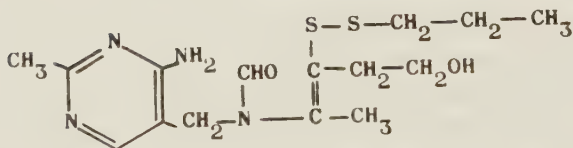


Abb. 35: Thiamin-propyl-disulfid

Die ersten biologischen Versuche von FUJIWARA u. M. (79) ergaben, daß Allithiamin im Futter von Reissvögeln (*Uroloncha sp.*) (46) und Ratten das Thiamin ersetzen konnte. LILLY u. M. (67) bestätigten den Befund für Ratten und bewiesen außerdem seine Vitaminwirksamkeit im mikrobiologischen Test mit 5 thiaminbedürftigen Pilzen (*Endoconidiophra fimbriata*, *Mucor rommanianus*, *Phycomyces blakesleeana*, *Schizothecum longicolle*, *Thielaviopsis basicola*). FUJIWARA (31) wies wie LILLY u. M. (67) darauf hin, daß Allithiamin nur als Wachstumsstimulator wirkte, wenn reduzierendes Cystein im Nährboden vorhanden war, so daß Allithiamin

dem Mikroorganismus wahrscheinlich nur in reduzierter Form zugänglich ist. Die Reduktionsprodukte Thiamin und S-Allyl-mercaptocystein erzeugten bei gleichzeitiger Zugabe zum Nährboden bei *Lb. fermenti* dasselbe Wachstum wie Thiamin allein (31).

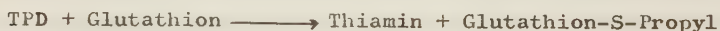
DE RENZO u. M. (100) fanden, daß äquimolare Mengen Thiamin, Allithiamin und TPD bei oraler und intramuskulärer Applikation an Ratten oder Kücken gleiche Wachstumswirkung entfalteten. Dagegen erwies sich Allithiamin und DPT in hohen Dosen dem Thiamin deutlich überlegen (32, 54, 100). Sie erhöhten nicht nur stärker und dauerhafter den Blutspiegel an freiem und verestertem Thiamin, sondern steigerten auch die Cocarboxylase-Konzentration der Leber und anderer Organe mehr, als das Vitamin es vermochte (36, 38, 42, 47, 100). FUJIWARA u. M. (32), YANO (133) und INOUE u. M. (42) beobachteten, daß nach oraler Verabreichung von TPD oder Allithiamin bei Mensch und Tier eine Flut von Thiamin im Harn erschien. Dieser Befund war insofern überraschend, als die Thiaminausscheidung im Urin auch bei verschieden großer Zufuhr des Vitamins niemals ein bestimmtes Maximum (6 mg) (47, 109) überschritt, während sie nun nach Applikation von Allithiamin oder TPD proportional der verabreichten Dosen anstieg (47).

Bei der Erklärung dieser Beobachtungen ist man sich darin einig, daß die intensivere Vitaminwirkung dieser Disulfid-Verbindungen in erster Linie auf deren physikalische Eigenschaften zurückzuführen ist (36, 38, 47, 100, 127). Im Gegensatz zum wasserlöslichen Thiamin verhalten sich Allithiamin und TPD lipophil. Ihre Fettlöslichkeit steigert die Affinität zur Darmmukosa und verbessert die Absorption. Dagegen resorbiert die Ratte, wie MORRISON u. M. (88) feststellten, unabhängig von der zugeführten Thiamindosis maximal nur 25 g, und der Rest wird mit den Faeces ausgeschieden. KIRK u. M. (63) entdeckten sogar $1/2 - 3/4$ einer oralen Dosis von 5 mg Thiamin im menschlichen Stuhl wieder.

Die lipophile Natur dieser Verbindungen ermöglichte jedoch nicht nur eine gründlichere Absorption aus dem Darm, sondern erleichter-

te ihnen auch das Durchdringen anderer Zellmembranen. Japanische Wissenschaftler (53, 64, 116, 121, 122) bewiesen in zahlreichen Arbeiten die hohe Affinität von TPD und Allithiamin zu den Erythrozyten, die sich auch an der Umwandlung in Thiamin beteiligten, und HIOCO u. N. (38) führte die hohe Cocarboxylase-Ergiebigkeit des TPD nicht nur auf die gute Absorption, sondern auch auf die besondere Affinität des TPD zur Leberzelle zurück. Mit der Fähigkeit, in die Zellen einzutreten, verlängerte sich die Wirkungs-dauer dieser Verbindungen, da sie der Ausscheidung durch die Nieren entgingen (36, 47, 54).

Über den Umwandlungsmechanismus von Allithiamin und TPD im Blut oder anderen Geweben wurden bisher nur Vermutungen geäußert. Nach oraler Gabe ließ sich TPD kaum im Blut der Darmvenen nachweisen (54), da es dort bald in Thiamin umgewandelt wurde. YURUGI (138) zeigte in vitro, daß durch Reaktion von TPD mit Cystein Thiamin und S-Propyl-mercaptocystein entstehen. KAWA-SAKI (54) vermutete, daß auch in vivo aus der Reduktion von TPD-Propyl-mercapto-Verbindungen hervorgehen, die sich mit dem reduzierenden Protein oder Glutathion verbinden. Er formulierte diese Hypothese in der Gleichung:



Das aus TPD freigesetzte Thiamin ist seiner Meinung nach mit S-Propyl-mercapto-Verbindungen vergesellschaftet. Er hielt es für möglich, daß sich in kleinem Ausmaß aus den beiden Reaktionsprodukten wieder TPD oder Disulfid-Verbindungen bilden, und sah die Ursache für die größere Gewebe-Affinität des aus TPD stammenden Thiamins in der Anwesenheit dieser Begleitsubstanzen (54). Im Gegensatz zur Spaltung des TPD scheint auch die Bildung von Allithiamin aus simultan verabreichtem Thiamin und Allicin möglich zu sein. YOSHIMURA (137) verfütterte Thiamin und Allicin, MATSUBARA (73) Thiamin und Dipropyl-, Diallyl-disulfid oder S-Propyl-mercaptocystein an Kaninchen, und beide beobachteten eine höhere Thiaminausscheidung im Harn als bei alleiniger Thiamin-

Applikation. Der Thiamingehalt des Urins war allerdings nicht so bedeutend wie der, der einer oralen Verabreichung von Allithiamin oder TPD folgte. Wurde Thiamin i.v. und Allicin oral verabreicht, stieg der Thiaminspiegel des Blutes ebenfalls höher als nach Gabe des Vitamins (137). KAWASAKI (54) führte die Bedeutung des Knoblauchs und anderer Allium-Zwiebeln als Tonicum der Orientalen zum Teil auf ihre Fähigkeit zur Bildung von Allithiamin und der damit verbundenen Verbesserung der Thiaminabsorption zurück. Schon 1881, als die Ätiologie der Beriberi noch im Dunkeln lag, beobachtete ODATE (93) schnelle Besserung beriberi-kranker Patienten, wenn sie Knoblauch und thiaminreiche Azuki-Bohnen zusammen aßen. Dieses Gericht wird in Japan oft zur Verhütung von Beriberi verwendet.

Allithiamin-verwandte Verbindungen

Nachdem Allithiamin und TPD so gute biochemische Eigenschaften bewiesen hatten, wurden weitere asymmetrische Disulfide des Thiamins dargestellt. Bei der Inkubation alkoholischer Extrakte aus Zwiebeln der Pflanzenfamilie Liliacea mit Thiamin in schwach alkalischem Milieu entstanden neben Allithiamin und TPD die Methyl- und Äthyl-disulfide des Thiamins, die sich papierchromatographisch zu erkennen gaben (75, 138). Am häufigsten ließ sich die Methyl-disulfid-Form (I) nachweisen (Abb. 36). Sie zeigte in biochemischen Versuchen die gleiche Absorbierbarkeit und die gleiche Affinität zu Erythrozyten wie TPD (116). Die Homologen des Allithiamins wurden in vivo leicht reduziert. Nach Aufnahme dieser Thiamin-Verbindungen machte sich oft ein unangenehmer Körpergeruch bei den Versuchspersonen bemerkbar, der den bei der Reduktion entstehenden Alkyl-mercapto-Verbindungen zur Last gelegt wurde (54). Durch Umwandlung dieser Stoffe in Tetrahydrofurfuryl- und Hydroxy-äthyl-Disulfide (II, III) (Abb. 36) erhielten japanische Wissenschaftler fast geruchlos wirkende Verbindungen, die, da sie die gleichen biochemischen Eigen-

schaften hatten wie TPD (2, 3), als Arzneimittel eingesetzt wurden (9a, 62a, 133a). Oral verabreichtes Thiamintetrahydrofurfuryldisulfid (TTFD) wurde auf Grund seiner Fettlöslichkeit rasch und in großen Mengen aus dem menschlichen Darm resorbiert (53a). Auch rektal appliziertes TTFD wurde wie sich anhand der Thiaminausscheidung mit dem Harn zeigen ließ, resorbiert, während Thiaminhydrochlorid nicht bzw. nur in sehr geringem Ausmaß von der Rektumschleimhaut aufgenommen wurde (52a). TTFD bewirkte auf Grund seiner intestinalen Resorptionsrate einen höheren Thiaminspiegel in menschlichem Blut und Gewebe als Thiaminhydrochlorid (53a). Größere Affinität zu den Erythrozyten und besseres Diffusionsvermögen durch die Zellmembranen sorgten für eine längere Verweildauer des TTFD im Organismus (2, 53a).

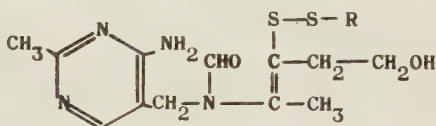
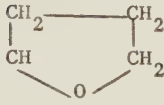


Abb. 36: Allithiamin-verwandte Verbindungen

- | | |
|---|---|
| I. R = -CH ₃ | V. R = -(CH ₂) ₂ -NH-CO-(CH ₂) ₂ -NH |
| II. R = -CH ₂ -  | -CO-CH(-OH)-C(CH ₃) ₂ |
| III. R = -CH ₂ - CH ₂ - OH | -CH ₂ OH |
| IV. R = -CH ₂ - CH  | VI. R = -(CH ₂) ₂ -CH-(S-CO CH ₃) |
| | -(CH ₂) ₄ -COOCH ₃ |
| | VII. R = -(CH ₂) ₂ -CH-(-SH)-(CH ₂) ₄ |
| | -COOH |

Zur Gruppe der asymmetrischen Disulfide des Thiamins gehören auch die Kombinationsprodukte des Vitamins mit biologisch wichtigen Mercaptoverbindungen wie Cystein, Glutathion, Liponsäure und Pantethein, die allerdings noch nicht in kristalliner Form isoliert wurden (54). MATSUKAWA u. M. (80) fanden das Thiamin-Cystein-Disulfid (IV) (Abb. 36) als Zwischenprodukt des Reduktionsvorganges von TDS durch Cystein bei Papierchromatographie der Reaktionsprodukte. Bei der Reduktion durch Glutathion bildete sich in gleicher Weise das Thiamin-glutathion-Disulfid (84). BANHIDI (5, 7) untersuchte Thiamin-Pantethein-Disulfid (V) (Abb. 36) und Thiamin-Dihydroliponsäure-Disulfid (VII) (Abb. 36) auf ihre Wachstumswirkung an *Lb. fermenti* und *Corynebact. bovis*. Beide Verbindungen entfalteten ihre Aktivität ohne Zusatz von Cystein zum Nährboden, was KAWASAKI (54) so deutete, daß sie infolge ihrer Instabilität leicht in freies Thiamin übergehen. Die Existenz mikrobiologisch aktiver Disulfid-Komplexe mit den genannten Mercapto-Verbindungen ließ BANHIDI (7) daran denken, daß sie bei der Thiaminwirkung im Zellinnern eine Rolle spielen.

1961 synthetisierte OHARA (94) ein kristallines Disulfid aus Thiamin und Essigsäure-dihydroliponsäure-ester (VI) (Abb. 36), welches sich im Darm leicht absorbieren und im Blut in Thiamin und Liponsäure umwandeln ließ. Im Gegensatz zu BANHIDIS Komplex mit Dihydroliponsäure stimulierte die Acetyl-Verbindung das Wachstum von *Lb. fermenti* nicht ohne Cystein (54).

3. S- und O-acylierte Thiaminverbindungen

1953 entwickelten japanische und deutsche Wissenschaftler eine neue Art von Thiaminverbindungen. Mit Hilfe von Benzoylchlorid stellten sie aus einer stark alkalischen Lösung von Thiamin das Dibenzoylthiamin (DBT) (VIII) dar (60, 76, 136, 140) (Abb. 37). In gleicher Weise entstanden durch Reaktion des Thiamins mit acylierenden Substanzen die O, S-diacylierten Thiaminderivate, unter denen das Diacetylthiamin (DAT) (IX) (Abb. 37) am be-

kanntesten wurde (60, 76, 78, 82). Außerdem ergab die teilweise Benzoylierung und Acylierung Verbindungen wie S-Benzoylthiamin und andere nur am S-Atom acylierte Thiamine (44, 60, 86, 136).

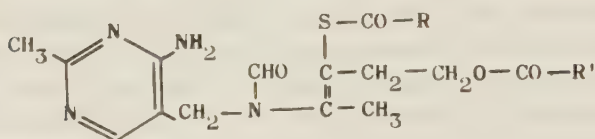
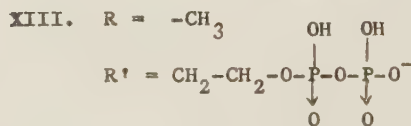
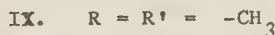


Abb. 37: S- und O-acylierte Thiaminverbindungen (54)



Dibenzoylthiamin ist in Japan zur Anreicherung von Lebensmitteln zugelassen (54). Es wurde nach oraler Verabreichung am Tier besser absorbiert als das Vitamin und in Form von Thiamin schnell im Harn ausgeschieden (117). In einer der Minimaldosis von Thiamin äquivalenten Menge (2 - 5 mg) erzeugte es bei den Versuchstieren entweder gleiches oder geringeres Wachstum. Bei einer Tagesdosis von mehr als 10 mg zeigten die Tiere die gleiche Gewichtszunahme wie nach minimalen Dosen des Vitamins (1, 130). Im Wachstumstest mit *Lb. fermenti* zeigte DBT, auch bei Zugabe von Cystein zum Nährboden, keine biologische Aktivität (31). Dagegen verbesserte *Kloeckera apiculata* IFO 0630 nach Zusatz von DBT ihr Wachstum, jedoch nicht in gleichem Maß wie nach Thiaminzufuhr (54).

Diactylthiamin erwies sich sowohl bei Tieren als auch bei *Kloeckera apiculata* als ebenso wirksam wie Thiamin, jedoch betrug seine wachstumsstimulierende Wirkung bei *Lb. fermenti* nur 1/100 der des Vitamins (4). IWASAKI (45) fand, daß injiziertes DAT den Thiaminspiegel der Milch bei Ziegen mehr steigerte als oral verabreichtes, während es beim Menschen auch nach oraler Gabe ausgezeichnete Wirkung auf den B_{12} -Gehalt der Muttermilch ausübte.

DAT ließ sich durch enzymatische und nicht-enzymatische Reaktionen leicht in Thiamin überführen (117). Bei Anwesenheit geeigneter Acceptoren wie Anilin (61), Histidin (125), Glutathion (77, 78), Cystein (61) kam es bei DAT leicht zum Transfer des Acetyl-Radikals (54). Demgegenüber wurde bei DBT nur in wenigen Fällen Transbenzoylierung auf Glutathion (61) oder andere Acceptoren (57) beobachtet. Der Erfolg von DBT und DAT förderte das Interesse an weiteren Acyl-Derivaten. MATSUKAWA u. M. (82) berichteten über Synthesen mit verschiedenen acylierenden Agentien. Es entstanden Verbindungen wie S-Propionyl, O-Propionyl-(X) (Abb. 37), S-Butyryl, O-Butyryl-(XI) (Abb. 37), S-Benzoyl, O-Acetyl-, S-Furoyl, O-Acetyl-(XII) (Abb. 37), S-Furoyl, O-Propionyl-, S-Benzoyl, O-Propionyl- und Difuroylthiamin etc.

1956 synthetisierte KAWASAKI (62) zwei interessante Verbindungen: S-Acetylthiamin-mono- und -diphosphat (XIII) (Abb. 37). Schon drei Jahre zuvor hatten MATSUKAWA u. M. (76) die Hypothese aufgestellt, daß S-Acetylthiamin-pyrophosphat ein Zwischenprodukt bei der Übertragung des "aktiven Acetats" von Brenztraubensäure auf Coenzym A sei. Tatsächlich gab das Pyrophosphat des S-Acylthiamin in Experimenten von KAWASAKI (62) und UEHARA u. M. (125) sein S-Acyl-Radikal an Cystein, Glutathion sowie Coenzym A ab. und unterstützte damit die Hypothese von MATSUKAWA u. M. (76). KAWASAKI (54) dagegen hielt diese Rolle des S-Acylthiamin-pyrophosphats im Thiaminstoffwechsel für unmöglich, da es sich weder enzymatisch aus Thiamin bilden, noch aus natürlichen Quellen isolieren ließ. Zudem rückten neuere Arbeiten von BRESLOW (17), HOLZER u. M. (40) und KRAMPITZ u. M. (65) das 2- α -Hydroxyäthyl-

thiamin-pyrophosphat als "aktiven Acetaldehyd" in den Mittelpunkt des Thiaminstoffwechsels.

1960 synthetisierte MATSUI (83) das Monophosphat des S-Benzoylthiamins. Es erwies sich bei Tauben und Reisvögeln fast ebenso wirksam wie das Vitamin (129). In Gegenwart von Cystein im Nährboden erzeugte es bei *Lb. fermenti* und *Kloeckera apiculata* dasselbe Wachstum wie Thiamin (55).

Für die Umwandlung der Diacylthiamine in Thiamin ist einmal die Hydrolyse der S-Acyl-, zum andern die Hydrolyse der O-Acyl-ester-Bindung erforderlich. Das gleiche gilt für die S-Acyl, O-Phosphat-Verbindungen des Vitamins (54). YAMAZUKI u. M. (132) erhielten bei Bebrütung von S-Benzoylthiamin-phosphat mit Ratten-darm-Homogenat Hinweise darauf, daß die Hydrolyse des Phosphates derjenigen des S-Benzoyl-Esters voranging.

Wenn die Hydrolyse der O-Acyl- oder O-Phosphat-Bindung den ersten Umwandlungsschritt darstellt, ist die Acetyl-Übertragung von der S- auf die OH-Gruppe innerhalb des Moleküls möglich (54, 136).

MINESHITA u. M. (85) untersuchten einige S-Alkoxy-Modifikationen des Thiamins, S-Äthoxy-(XIV) (Abb. 38), S-Butoxy-(XV) (Abb. 38) und Diäthoxycarbonylthiamin (XVI) (Abb. 38), auf ihre Vitaminwirksamkeit. Im Rattenwachstumstest zeigten sich diese Verbindungen dem Thiamin gleichwertig oder leicht unterlegen. Während sie das Wachstum von *Lb. fermenti* nicht stimulierten, förderte S-Äthoxycarbonylthiamin das Wachstum von *Kloeckeria* mehr als Thiamin

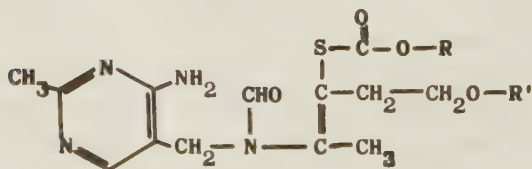
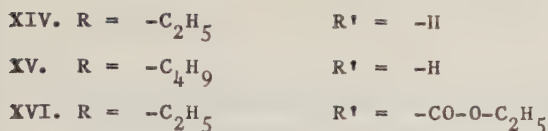


Abb. 38: S-Alkoxy-Modifikationen des Thiamins (54)



Nach S-Butoxycarbonylthiamin-Zugabe wuchs das Bakterium etwas weniger gut als nach Thiamin-Gabe; auf 0, S-Diäthoxycarbonylthiamin reagierte es mit unvollständigem Wachstum (56).

Die Umwandlung dieser Alkoxy-Verbindungen scheint mit Schwierigkeiten verbunden zu sein (54). MINESHITA u. M. (84) und TAKENOUCHI u. M. (120) konnten das Diäthoxy-carbonylthiamin nach oraler bzw. in den ligierten Darm vorgenommener Applikation im Blut nachweisen, während andere Typen modifizierter Thiaminverbindungen kaum im Blut demonstriert werden konnten. (54). Auch Kloeckeria-Zellen zeigten bei schneller Absorption von S-Äthoxycarbonylthiamin nur langsame Umwandlung in Thiamin (58).

4. Cyanothiamin

1957 synthetisierten KASAHARA (52) und YONEMOTO (135) durch Reaktion von TDS mit KCN oder durch Addition von Cyanbromid mit alkalischem Thiamin Cyanothiamin. Da es durch Cystein oder andere Sulfhydrylverbindungen leicht in Thiamin umgewandelt wird, erwies es sich bei Tieren als ebenso wirksam wie Thiamin (54) (Abb. 39).

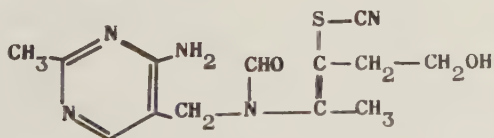


Abb. 39: Cyanothiamin

5. S- bzw. O-Carbamoyl-Thiaminverbindungen

Die von TAKAMIZAWA u. M. (119) synthetisierten S-Carbamoyl-thiamin-Derivate wurden im Darm nur wenig absorbiert. Dagegen zeigte O-Dimethylcarbamoyl-S-äthoxycarbonylthiamin trotz großer Absorption nur geringe Thiaminwirksamkeit. Die Verfasser erklärten diesen Befund damit, daß der Organismus bei der Abspaltung der Dimethylcarbamoyl-Gruppe Schwierigkeit habe und diese Verbindung dementsprechend schwer zu Cocarboxylase phosphorylieren könne (Abb. 40).

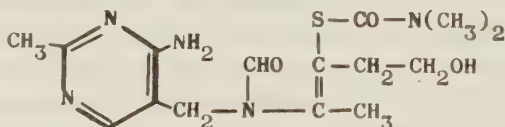


Abb. 40: S-Dimethylcarbamoyl-thiamin (119)

Zu den am S-Atom modifizierten Thiaminderivaten sei abschließend noch gesagt, daß Alkylierung des Schwefels nur inaktive Substanzen hervorbringt (54).

C. Zusammenfassung

Tab. 3: Übersicht über die in Teil B abgehandelten Vitamin-
B₁-verwandten Verbindungen und ihre biologische
Wirksamkeit

Vitamin-B ₁ -verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität im Ver- gleich zu Thiamin bei Ratte (R), Taube (T) und Mensch (M)	physiolo- gische Beson- derheiten
2'-Äthylthiamin	100 % (T)	
2'-Propylthiamin		
2'-Isopropylthiamin	33 % (T)	
2'-Butylthiamin	Antivitamin (R)	
Derivat ohne Alkyl- gruppe in Position 2	5 % (T)	
4'-Aminomethylthiamin	0.5 % (T)	
6'-Methylthiamin	0.125 % (T)	
5'-CH ₂ -CH ₂ -Brücke zwischen Thiazol- u. Pyrimidinring	1.25 % (T)	
4-Äthylthiamin	50 % (T)	
4-Propylthiamin	2.7 % (T)	
4-Äthyl-4'-äthylthiamin	50 % (T)	
4-Propyl-4'-äthyl- thiamin	1.4 % (T)	
Derivat ohne Alkyl- gruppe in Position 4	1.2 % (T)	
5-CH ₂ -CH ₂ -Cl-Derivat	0.3 % (T)	
Butylthiaminglykol	- (T)	
Thiothiamin	- (R)	
Oxothiamin	- (R)	
Dihydrothiamin	6.6 % (R)	

Fortsetzung Tab. 3

Vitamin-B ₁ -verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität im Vergleich zu Thiamin bei Ratte (R), Taube (T) und Mensch (M)	physiologische Besonderheiten
T h i a m i n d i - s u l f i d e		
Thiamin-disulfid (TDS)	100 % (R, T)	bessere Absorption aus dem Darm anhaltendere Gewebekonzentration
Benzoyl-TDS	thiamin-wirksam (R)	
TDS-Phosphat	" (R)	erzeugt deutlichere Hypoglykämie bei Hund u. Kaninchen
Allithiamin Thiaminpropyldisulfid TPD	100 % (R, M)	Fettlöslichkeit,, bessere Absorption aus dem Darm anhaltendere Gewebespiegel
Methyl- u. Äthylhomologe des Allithiamins	100 % (R, M)	wie TPD
Thiamin-tetrahydrofurfuryl-disulfid, (TTFD)	100 % (R, M)	wie TPD
S- u. O-A c y l t h i a - m i n		
Dibenzoylthiamin (DBT)	100 % oder etwas weniger (Versuchstier)	bessere Absorption
Diacetylthiamin	100 % (Versuchstier)	
S-Benzoyl-thiamin-monophosphat	fast 100 % (T)	
S-Alkoxy-Derivate	100 % oder weniger (R)	
Cyanothiamin	100 % (R)	
O-Dimehtylcarbamyol-S-äthoxycarbonylthiamin	"geringe Thiaminwirksamkeit" (?)	

D. Literaturnachweis:

Vitamin-B₁-wirksame Substanzen

Da mir eine Reihe von Veröffentlichungen japanischer Herkunft im Originaltext nicht zugänglich war, habe ich ihren Inhalt dem Sammelreferat KAWASAKIS (54) bzw. den jeweiligen Zusammenfassungen in den Chemical Abstracts entnommen.

1. ARAMAKI, Y., T. KOBAYASHI, K. FURUNO: Takeda Kenkyusho Nempo: 14, 29 (1955)
2. ARAMAKI, Y., T. KOBAYASHI, K. FURUNO, I. ISHIKAWA, Z. SUZUOKI, S. SHINTANI: Vitamins (Kyoto) 16, 240, 245 (1959)
3. ARAMAKI, Y., T. KOBAYASHI, Z. SUZUOKI, I. ISHIKAWA, H. YOKOTANI, S. SHINTANI, K. FURUNO: ibid. 21, 91 (1960)
4. ARAMAKI, Y., J. WATANABE, J. SUZUOKI: ibid. 7, 118 (1954); C.A. 49, 14936 b (1955)
5. BANHIDI, Z.G.: Acta chem. scand. 13, 1901, 1904 (1959)
6. BANHIDI, Z.G.: J. Bacteriol. 79, 181 (1960)
7. BANHIDI, Z.G.: Acta physiol. scand. 50, Suppl. 174, 1 (1960)
8. BANHIDI, Z.G.: Int. Z. Vitaminforsch. 30, 305 (1960)
9. BERGEL, F., A.R. TODD: J. chem. Soc. 1504 (1937)
- 9a. BERNDT, H.: Münch. Med. Wschr. 107, 1884 (1965)
10. BIGGS, J., P. SYKES: J. chem. Soc. 1849 (1959)
11. BIGGS, J., P. SYKES: ibid. 2595 (1961)
12. BONVICINO, G., D.J. HENNESSY: Int. Z. Vitaminforsch. 30, 89 (1959)
13. BONVICINO, G., D.J. HENNESSY: Int. Z. Vitaminforsch. 30, 97 (1959)
14. BOWMAN, A.: J. chem. Soc. 494 (1937)
15. BRESLOW, R.: J. amer. chem. Soc. 79, 1762 (1957)
16. BRESLOW, R.: ibid. 80, 3719 (1958)
17. BRESLOW, R.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 98, 445 (1962)
18. BRESLOW, R., E. MC NELIS: J. amer. chem. Soc. 81, 3080 (1959)
19. BUCHMAN, E.R., R.R. WILLIAMS: ibid. 57, 1751 (1935)
20. BUDESINSKY, Z.: in J. FRAGNER: Die Vitamine, II. G. Fischer Verlag, Jena 1965, S. 1467
21. CERECEDO, L.R., M. SOODAK, A.J. EUSEBI: J. biol. Chem. 189, 293 (1951)

22. CHIBATA, I., S. YAMADA, H. ITO, S. FURUTSU, M. ONO, I. UTSUMI: Vitamins (Kyoto) 25, 85 (1962)
23. CLINE, J.K., R.R. WILLIAMS; J. FINKELSTEIN: J. amer. chem. Soc. 59, 1052 (1937)
24. DANIEL, L.J.: J. Nutr. Abstr. Rev. 31, 1 (1961)
25. DORNOW, A., A. HARGESHEIMER: Ber. dtsch. chem. Ber. 86, 461 (1953)
26. DORNOW, A., A. HARGESHEIMER: zit. SCHNEUNERT et al.: Vitamine und Hormone 7, 105 (1957)
27. EMERSON, G.A., P.L. SOUTHWICK: J. biol. Chem. 160, 169 (1945)
28. FELLEBERG, T. VON: Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. 33, 232 (1942)
29. FUENTE, G., DE LA, R.D. CADAIECO: Nature 174, 1014 (1954)
30. FUJITA, D.: Vitamins (Kyoto) 7, 356 (1954); C.A. 49, 14936 g (1955)
31. FUJIWARA, K.: ibid. 21, 447 (1960)
32. FUJIWARA, M., H. NANJO, T. ARAI, Z. SUZUOKI: J. Biochem. (Tokyo) 41, 273 (1954)
33. FUJIWARA, M., H. WATANABE: Proc. Japan. Acad. 28, 156 (1952)
34. FUJIWARA, M., H. WATANABE, K. MATSUI: J. biochem. (Tokyo) 41, 29 (1954)
35. GREGOLIN, C., C.S. ROSSI, N. SILIPRANDI, M. GORI: Int. Z. Vitaminforsch. 32, 4 (1962)
36. GREIF, S.: Wien. Klin. Wschr. 75, 828 (1963)
37. HARLAND, A.H., S. ASHWORTH: J. Dairy Sci. 28, 15 (1945)
38. HIOCO, D., R. TIXIER, A. UZAN, R. THEVENOT: C.R.Soc. biol. 248, 2138 (1959)
39. HOLT, C. VON, E.O. WIETHOFF, B. KRÖNER, W. LEPLA, L. VON HOLT: Biochem. Z. 329, 119 (1957)
40. HOLZER, H., F. DA FONSECA-WOLLHEIM, G. KOHLHAW, C.W. WOENCKHAUS: Ann. N.Y. Acad. Sci. 98, 453 (1962)
41. ICHIDA, N.: J. Vitaminol. (Kyoto) 5, 61 (1959)
42. INOUE, K., E. KATSURA: Therapie Gegenwart 98, 482 (1959)
43. IOCONO, J.M., B.C. JOHNSON: J. amer. chem. Soc. 79, 6321 (1957)
44. ITO, A.: Yakugaku Zasshi: 82, 883 (1962)
45. IWASAKI, T.: Vitamins (Kyoto) 9, 525 (1955); C.A. 50, 14896 f (1956)
46. JANCARIK, A.: Vitamine und Hormone 7, 430 (1957)
47. JOST, F.: Med. Welt 52, 2739 (1961)

48. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1961, S. 81
49. KARRER, P., W. GRAF, J. SCHUKRI: *Helv.* 28, 1523 (1945)
50. KARRER, P., H. KRISHNA: *ibid.* 33, 555 (1950)
51. KARRER, P., M. VISCONTINI: *Helv.* 29, 711 (1946)
52. KASAHARA, S.: *Yakugaku Zasshi* (J. Pharm. Soc. Japan) 77, 1133 (1957); *C.A.* 52, 5422 h (1958)
- 52a. KASPER, H.: Zur Frage der Thiaminresorption im Colon. Vortrag anlässlich des VII. Internationalen Ernährungskongresses in Hamburg, 1966
53. KATSURA, E., M. FUKUDA, A. NAKAMURA, S. KOBAYASHI, I. KUSAMA, K. OBATA: *Naika Hokan* 4, 571, 605, 657 (1957); *C.A.* 53, 11599 e, h, 11600 b (1959)
54. KAWASAKI, C.: *Vitamins Hormones* 21, 69 (1963)
- 53a. KATSURA, E., A. NAKAMURA, Y. ARAMAKI: *Therapie d. Gegenwart* 103, 1092 (1964)
55. KAWASAKI, C., E. HIRAOKO, S. SHIMAMOTO: *Vitamins* (Kyoto) 24, 27 (1961)
56. KAWASAKI, C., E. HIRAOKO, S. SHIMAMOTO: *ibid.* 28, 295 (1963)
57. KAWASAKI, C., T. HORIO, N. ENDO: *ibid.* 28, 152 (1963)
58. KAWASAKI, C., S. SHINODA: *ibid.* 28, 299 (1963)
59. KAWASAKI, C., S. YAMADA: *ibid.* 25, 310 (1962)
60. KAWASAKI, H.: *Yakugaku Zasshi* (J. Pharm. Soc. Japan) 74, 588 (1954); *C.A.* 49, 4661 g (1955)
61. KAWASAKI, H.: *ibid.* 75, 374 (1955); *C.A.* 50, 2550 d (1956)
62. KAWASAKI, H.: *ibid.* 76, 543 (1956); *C.A.* 50, 13044 c (1956)
- 62a. KIMURA, N., H. TOSHIMA, S. NISHIMOTO, S. KODAMA, S. NAKAKURA, I. MOHRI, A. SHOJI, F. KARAYAMA: *Med. Klinik* 59, 1440 (1964)
63. KIRK, G.E., M. CHIEFFI: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 77, 464 (1951)
64. KUROKI, T.: *Vitamins* (Kyoto) 13, 275 (1957); *C.A.* 54, 4817 h (1960)
65. KRAMPITZ, L.O., J. SUZUOKI, G. GREULL: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 28, 466 (1962)
66. LAQUER, F.: *Int. Z. Vitaminforsch.* 7, 336 (1938)
67. LILLY, V.G., H.L. BARNETT, B.G. ANDERSON: *Science* 118, 548 (1953)
68. LIPMAN, F., G. PERLMANN: *Nature* 138, 1097 (1936)

69. LOHMANN, K., P. SCHUSTER: Biochem. Z. 294, 188 (1937)
70. LOHMANN, K., P. SCHUSTER: Naturwiss. 25, 26 (1937)
71. MARTEN, G.: Naturwiss. 42, 443 (1955)
72. MARTEN, G.: Nature 176, 1064 (1955)
73. MATSUBARA, K.: Vitamins (Kyoto) 12, 80 (1957); C.A. 51, 15729 c (1957)
74. MATSUKAWA, T., T. IWATSU: Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan) 69, 550 (1949); C.A. 44, 4475 b (1950)
75. MATSUKAWA, T., H. KAWASAKI: ibid. 73, 216, 497 (1953); C.A. 48, 2071 a, 3372 c (1954)
76. MATSUKAWA, T., H. KAWASAKI: ibid. 73, 705, 709 (1953); C.A. 48, 7017 a, 7017 f (1954)
77. MATSUKAWA, T., H. KAWASAKI: ibid. 74, 892, 893 (1954); C.A. 49, 9627 i, 9628 a (1955)
78. MATSUKAWA, T., H. KAWASAKI: J. Vitaminol. (Kyoto) 1, 260 (1955)
79. MATSUKAWA, T., S. YURUGI: Proc. Japan. Acad. 28, 146 (1952)
80. MATSUKAWA, T., S. YURUGI: Science 118, 109 (1953)
81. MATSUKAWA, T., S. YURUGI: Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan) 74, 1373 (1954); C.A. 49, 4820 a (1955)
82. MATSUKAWA, T., S. YURUGI, Y. OKA: Ann. N.Y. Acad. Sic. 98, 430 (1962)
83. MATSUI, M.: Vitamins (Kyoto) 19, 163 (1960)
84. MINESHITA, T., M. MORITA: ibid. 26, 232 (1962)
85. MINESHITA, T., M. MORITA, T. IWATA: ibid. 25, 483 (1962)
86. MINESHITA, T., A. TAKAMIZAWA, K. HIRAE, M. MORITA: ibid. 23, 425 (1961)
87. MIZUHARA, S., P. HANDLER: J. amer. chem. Soc. 76, 571 (1954)
88. MORRISON, A.B., J.A. CAMPBELL: J. Nutr. 72, 435 (1960)
89. MYRBÄCK, K., I. VALLIN: Svensk Kem. Tidskr. 57, 72 (1945)
90. MYRBÄCK, K., I. VALLIN, J. MAGNELL: ibid. 57, 124 (1945)
91. NINOMIYA, H., T. SUZUOKI, M. KURIHARA: Vitamins (Kyoto) 6, 429 (1953)
92. OCHOA, S.: Physiol. Rev. 31, 56 (1951)
93. ODATE: zit. nach C. KAWASAKI: Vitamins Hormones 21, 69 (54) (1963)
94. OHARA, M.: Vitamins (Kyoto) 23, 164 (1961)
95. PETERS, R.A.: Biochem. J. 32, 2031 (1938)
96. PETERS, R.A.: Nature 158, 707 (1946)

97. PETRELLI, F., N. SILIPRANDI: Int. Z. Vitaminforsch. 30, 111 (1960)
98. PIFER, C.W., E.G. WOLLISH: J. am. pharm. Assoc. 40, 609 (1951)
99. PRICE, D., F.D. PICKEL: J. amer. chem. Soc. 63, 1067 (1941)
100. RENZO, E.C. DE, J.J. OLESON, B.L. HUTCHINGS, J.H. WILLIAMS: J. Nutr. 54, 133 (1954)
101. SCHEUNERT, A., H. HAENEL: Z. physiol. Chem. 295, 354 (1953)
102. SCHEUNERT, A., H. HAENEL: Vitamine und Hormone 7, 105 (1957)
103. SCHMELKES, F.C.: Science 10, 113, Nr. 2327 (1939)
104. SCHOPFER, W.H.: C.R. Séances Soc. Physique Hist. natur. Genève 58, 58 (1941)
105. SCHOPFER, W.H., M.L. BEIN, G. BESSON: Int. Z. Vitaminforsch. 23, 36 (1951)
106. SCHULTZ, F.: Z. physiol. Chem. 265, 113 (1940)
107. SCHULTZ, F.: ibid. 272, 29 (1941)
108. SEXTON, W.A.: In "Chemical Constitution and Biological Activity". Spon. London 1953, S. 114
109. SEZE, S. DE, D. HIOCO, M. MAITRE: Conc. Med. 82, 557 (1960)
110. SILIPRANDI, D., N. SILIPRANDI: Biochim. biophys. Acta 14, 52 (1954)
111. STEIN, G.A., W.L. SAMPSON, J.K. CLINE, J.R. STEVENS: J. amer. chem. Soc. 63, 2059 (1941)
112. STEPP, W., J. KÜHNAU, H. SCHROEDER: Die Vitamine, F. Enke Verlag, Stuttgart 1939, 4. Aufl. S. 49
113. SUHARA, T., N. IRITANI: Vitamins (Kyoto) 13, 514 (1957); C.A. 54, 4799 f (1960)
114. SUOMALAINEN, H., S. RIGHTNIEMI, E. OURA: Acta chem. scand. 13, 2131 (1959)
115. SUZUOKI, Z., K. FURUNO, M. KAWASHIMA: Vitamins (Kyoto) 16, 249 (1959)
116. SUZUOKI, Z., T. SUZUOKI: J. Biochem. (Tokyo) 40, 11 (1953)
117. SUZUOKI, Z., T. SUZUOKI, M. KURIHARA: Vitamins (Kyoto) 7, 120 (1954); C.A. 49, 14 936 c (1955)
118. TAKAGAWA, H.: ibid. 7, 573 (1954); C.A. 49, 14 937 b (1955)
119. TAKAMIZAWA, A., K. HIRAI, Y. HAMASHIMA: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 11, 882 (1963)
120. TAKENOUCHI, K., K. ASO, Y. NOZAKI: Vitamins (Kyoto) 26, 222 (1962)
121. TAKENOUCHI, K., K. ASO, S. SHIMIZU, T. KOBAYASHI: Vitamins (Kyoto) 26, 245, 251, 257, 261 (1962)

122. TAMAKI, T., Y. NOSE: J. Vitaminol. (Kyoto) 1, 85 (1955)
123. TODD, A.R., F. BERGEL: J. chem. Soc. 1559 (1936)
124. TSUNO, S.: Vitamins (Kyoto) 14, 676 (1958)
125. UEHARA, K., J. MURASE, M. TSUKAMOTO: Shikagaku 34, 348 (1962)
126. VELLUZ, L., G. AMIARD, J. BARTOS: J. biol. Chem. 180, 1137 (1949)
127. VENTURA, U., E. GIACOLONE, G. RINDI: Acta Vitamin (Milano) 17, 177 (1963)
128. VISCONTINI, M., G. BONETTI, P. KARRER: Helv. 32, 1478 (1949)
129. WADA, T., H. TAGAKI, S. MIYAZAWA, Y. SUZUKI, H. MINAKAMI: Vitamins (Kyoto) 22, 342 (1961)
130. WATANABE, Y., Y. FUJII, S. SUGANO: ibid. 14, 307 (1958); C.A. 54, 22 884 b (1960)
131. WILLIAMS, R.R., J.K. CLINE: J. amer. chem. Soc. 58, 1504 (1936)
132. YAMAZAKI, M., T. WADA: Vitamins (Kyoto) 23, 285 (1961)
133. YANO, M.: ibid. 15, 606 (1958)
- 133a. YANO, R.: Med. Klinik 59, 1396 (1964)
134. YASUDA, T.: ibid. 6, 17 (1953); C.A. 48, 191 i (1954)
135. YONEMOTO, H.: Yakugaku Zasshi 77, 1124 (1957); C.A. 52, 5420 c (1958)
136. YOSHIDA, S.: ibid. 74, 993 (1954); C.A. 49, 11664 e (1955)
137. YOSHIMURA, M.: Vitamins (Kyoto) 14, 640, 647 (1958); C.A. 55, 12 568 g (1961)
138. YURUGI, S.: Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan) 74, 502 (1954); C.A. 49, 83 00 d (1955)
139. ZIMA, O., G. GÖTTMANN: Naturwiss. 41, 214 (1954)
140. ZIMA, O., C. GÖTTMANN, A. HOFFMAN, L. HEPDING, R. HOTOVY: E. Merck's Jahresberichte 67, 1 (1953)
141. ZIMA, O., R. HOTOVY: Arzneimittelforsch. 6, 623 (1956)
142. ZIMA, O., K. RITSERT, T. MOLL: Z. physiol. Chem. 267, 210 (1941)

Vitamin-B₆-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil

Die Bezeichnung Vitamin B₆ (Pyridoxin) umfaßt eine Gruppe von drei verwandten Verbindungen: Das Pyridoxol, seinen Aldehyd Pyridoxal und sein Amin Pyridoxamin (Abb. 41).

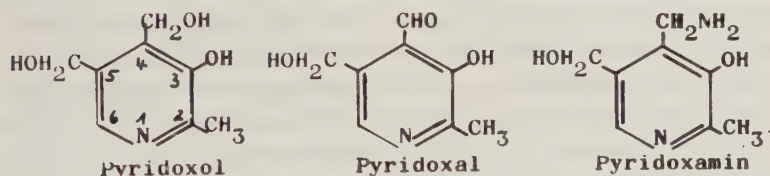


Abb. 41

Unabhängig voneinander erkannten 1939 zwei Arbeitsgruppen in Deutschland (44, 46) und Amerika (21, 26, 107) das Pyridoxol als verhältnismäßig einfach gebautes Pyridin-Derivat der Formel 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-dihydroxymethylpyridin. 5 Jahre später konnten HARRIS u. M. (24) auf Grund der Arbeiten von SNELL u. M. (97, 98, 99, 103) das sog. "Pseudopyridoxin" in organischem Material als Amin und Aldehyd des Pyridoxols identifizieren. Da ~~der~~ heute "Pyridoxol" benannte Alkohol (9) die zuerst bekannte Vitamin-B₆-Form darstellte, ist er in der älteren Literatur unter der nunmehr als Sammelnamen verwendeten Bezeichnung "Pyridoxin" zu finden.

Die Aufklärung der Struktur des Vitamins regte Untersuchungen über seine Funktion im Organismus und über die Abhängigkeit dieser Funktion von der Bauweise des Vitaminmoleküls an. Wenn man die Aktivität des Pyridoxalmoleküls mit seiner Struktur in Zusammenhang bringen will, sind fünf Bausteine zu betrachten:

1. Der heterozyklische Ring, 2. die Methylgruppe, 3. die phenolische Hydroxygruppe, 4. die Formyl(Aldehyd)-Gruppe und 5. die Hydroxymethylgruppe. Ihrer Bedeutung entsprechend sollen zunächst

die Substituenten in den Positionen 4 und 5 beleuchtet werden.

B. Spezieller Teil

I. Bedeutung und Änderungen der 4- und 5-ständigen Substituenten

1942 entdeckten SNELL u. M. (103), daß Gewebeextrakte außer Pyridoxol auch diesem ähnliche Substanzen enthielten, sog. Pseudopyridoxin, welches für Milchsäurebakterien einen viel höheren Wachstumseffekt hatte als Pyridoxol. Wenig später zeigten sie (97), daß sich Pyridoxol in vitro zum Aldehyd oxydieren und zum Amin aminieren ließ und beide Umwandlungsprodukte für diese Mikroorganismen hoch aktiv waren. Unter den von HARRIS u. M. (24) synthetisierten Pyridoxol-Derivaten besaßen diejenigen mit einer 4-Aminomethyl- bzw. 4-Formyl-Gruppe die gleiche Wirksamkeit wie die von SNELL beschriebenen Substanzen (98), die damit identifiziert waren. Aus der größeren Aktivität dieser Substanzen gegenüber den gewählten Testorganismen schloß man (106), daß sie dem funktionellen Katalysator enger verwandt sein mußten als Pyridoxol. Jedoch zeigte sich bald, daß die Wirksamkeit dieser Verbindungen mit dem untersuchten Organismus variierte. So reagierte *Lb. casei* praktisch allein auf Pyridoxal, während Pyridoxol und Pyridoxamin für ihn nur 1/1000 der Pyridoxalaktivität besaßen (7, 76). *Streptococcus faecalis* R wuchs sowohl bei Pyridoxal- als auch bei Pyridoxamin-Zufuhr. Dagegen förderte Pyridoxol sein Wachstum kaum; es war für ihn weniger als 1/1000 so aktiv wie Pyridoxal (76). *Saccharomyces carlsbergensis* sprach in gleichem Maße auf alle drei Vitaminformen an (75, 76, 87, 100, 106). WILLIAMS u. M. (116) faßten die bis 1950 bekannten Versuchsergebnisse dahingehend zusammen, daß die meisten Bakterien Pyridoxal oder Pyridoxamin wirksamer verwenden als Pyridoxol, Hefe und Schimmelpilze dagegen Pyridoxol sehr gut und in manchen Fällen besser zu nutzen vermögen als die Aldehyd- bzw. Aminform.

Bis zu den Arbeiten von SNELL u. M. (87, 106) enthält die Literatur über die relative Wirksamkeit der drei B₆-Faktoren bei

Tieren einige Widersprüche. Während CARPENTER u. M. (6) mit einem selbst dargestellten Pseudopyridoxin-Präparat das Wachstum von Ratten nicht stimulieren konnten, stellten LUCKEY u. M. (51) später an Vitamin B₆-verarmten Kücken bei oraler Verabreichung für kristallines Pyridoxal 1/2 und für kristallines Pyridoxamin 4/5 der Pyridoxol-Aktivität fest. MILLER u. M. (63) beurteilten die Wirksamkeit des Aldehyds und Amins schwächer als die von Pyridoxol, da diese Verbindungen die gesteigerte Xanthurensäure-Ausscheidung (49, 64) Vitamin B₆-verarmter Ratten und Mäuse in geringerem Maße verminderten als die Alkoholform. Demgegenüber beobachteten SNELL u. M. (66, 87), daß Pyridoxal und Pyridoxamin bei Kücken und Ratten dieselbe Aktivität entfalteten wie Pyridoxol, wenn sie entweder peritonäal injiziert oder separat von der Futterration mit einer Tropfpipette verabreicht wurden. Im Gemisch mit dem Futter dargeboten verringerte sich dagegen ihre Wirksamkeit bei beiden Tierarten beträchtlich. Diese unterschiedlichen Applikationsformen bewirkten, daß die B₆-Faktoren entweder überhaupt nicht, nur kurz oder sehr gründlich in Berührung mit der Darmflora gerieten. SNELL u. M. (87) versuchten die verminderte Aktivität von Pyridoxal bzw. Pyridoxamin bei Verabreichung mit dem Futter darauf zurückzuführen, daß sich die Darmbakterien bei ihrem Kontakt mit dem Futterbrei einen Teil dieser beiden Vitaminformen nutzbar machen, während sie Pyridoxol nicht verwenden. Diese Erklärung wurde durch die Tatsache unterstützt, daß die Gesamtheit der Darmflora zu einem großen Teil aus Milchsäurebakterien besteht (13, 73), für die, wie SNELL u. M. (106) zeigten, die oxydierte bzw. aminierte Form verwertbar ist im Gegensatz zum Alkohol. Bei Vitamin-B₆-verarmten Hunden förderten injiziertes Pyridoxol, Pyridoxal und Pyridoxamin das Wachstum und die Blut-Regeneration in gleichem Grade (86).

Während die soeben angeführten Untersuchungen im Gange waren, richteten sich andere Forschungsarbeiten darauf, die Funktion des Vitamins B₆ in vivo zu ergründen. GUNSALUS u. M. (2, 16) zeigten zunächst, daß Pyridoxal die Tyrosin-Decarboxylase von

Str. faecalis Zellen stimulierte, und wenig später, daß Adenosin-triphosphat für die Aktivität von Pyridoxal in diesem System essentiell war (17). Mit der Synthese eines phosphorylierten Pyridoxals und dem Beweis, daß dieses Derivat in Abwesenheit von ATP die Tyrosin-Decarboxylase aktivierte, identifizierten sie das Coenzym, welches GALE u. M. (15) Codecarboxylase nannten, als Pyridoxalphosphat. Diese Verbindung erwies sich bald auch als Coenzym anderer Aminosäuren decarboxylierender Enzyme (1, 111). 1951 erarbeiteten HEYL u. M. (34) die Strukturformel der Codecarboxylase, die seitdem als Pyridoxal-5-phosphat bekannt ist (Abb. 42).

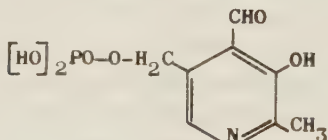
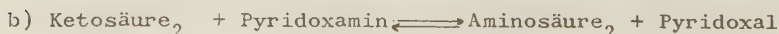
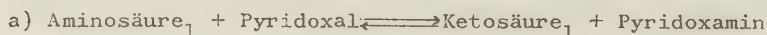


Abb. 42: Pyridoxal-5-phosphat

SNELL u. M. (101, 102, 104) vermuteten auf Grund des chemischen Verhaltens von Pyridoxal eine zweite funktionelle Rolle für Vitamin B₆. Sie (106) beobachteten bei der Bestimmung der wachstumsfördernden Aktivität des Aldehyds für verschiedene Organismen, daß das Erhitzen mit Aminosäuren seine Wirksamkeit gegenüber Lb. arabinosus, St. faecalis u.a. erhöhte, gegenüber Lb. casei dagegen stark verminderte. Nachfolgende in-vitro-Experimente erklärten diesen Vorgang damit, daß sich Pyridoxal in Anwesenheit von Aminosäure und katalysierenden Metallionen einer reversiblen Transaminierung unterzieht mit Bildung von Pyridoxamin und Ketosäure (61, 99).



c) Summe: Aminosäure₁ + Ketosäure₂ = Aminosäure₂ + Ketosäure₁

Dieser Reaktionsablauf schien SNELL (98, 99) das Modell enzymatischer Transaminierung in vivo zu sein. Das Absinken der Glutaminat-Oxalacetat-Transaminase-Konzentration in den Geweben Vitamin-B₆-verarmter Ratten und die Tatsache (89), daß sie sich in den meisten Fällen bei Zugabe von Pyridoxalphosphat normalisierte, unterstützte ihn in dieser Annahme ebenso wie die Beobachtung LICHSTEINS u. M. (50), daß die Glutaminat-Oxalacetat-Transaminase B₆-frei gezüchteter Str. faecalis-Zellen erst nach Zugabe von Pyridoxalphosphat aktiv werden konnte.

Neben seiner Funktion als Wirkgruppe in Reaktionen der Decarboxylierung und Transaminierung mit Aminosäuren beteiligte sich Pyridoxalphosphat an anderen Umsetzungen von Aminosäuren wie Razaemisierung (118), α - und β -Abspaltung und Anlagerung (102) und Tryptophan-Bildung aus Indol und Serin (10).

Das natürliche Vorkommen von Pyridoxaminphosphat in Hefe- und Leberextrakten (55, 74) und sein Nachweis in verschiedenen Transaminase-Präparaten (88) deuteten darauf hin, daß auch ihm eine biologische Funktion zukommt. Es entstanden darüber jedoch Zweifel, als UMBREIT u. M. (113) zeigten, daß die Glutaminat-Oxalacetat-Apotransaminase des Schweineherzens sich durch Pyridoxalphosphat, nicht aber durch Pyridoxaminphosphat aktivieren ließ. Nachdem später reine Pyridoxal- und Pyridoxaminphosphat-Präparate zugänglich waren (70), wiederholten MEISTER u. M. (58) den Versuch. Pyridoxal- und Pyridoxaminphosphat aktivierten die Glutaminat-Oxalacetat-Apotransaminase in gleichem Maße, was daran denken ließ, daß beide Phosphatester als Coenzyme dieser Transaminase fungieren können. Außerdem demonstrierten MEISTER u. M. (59) den Vorgang enzymatischer Transaminierung zwischen Pyridoxaminphosphat und α -Ketosäuren in Clostridium welchii.

Pyridoxolphosphat dagegen spielt in keinem der oben erwähnten biologischen Systeme eine Rolle als Coenzym (47, 69), vielmehr vermag es bei Pyridoxal- bzw. Pyridoxaminphosphat-abhängigen Enzymen als Inhibitor zu wirken (3, 58, 69).

Der Phosphorsäureester des Pyridoxals übte auf *Sacch.carlsbergensis*, *Lb.casei*, *Str.faecalis* und *Leuconostoc mesenteroides* eine viel geringere Wachstumswirkung aus als die äquimolare Menge Pyridoxal (74, 75). Demgegenüber erwies sich Pyridoxaminphosphat bei einigen Milchsäurebakterien (*Lb.lactis*, *Lb.helveticus*, *Lb.acidophilus*, *Str.faecalis*) als sehr aktiver Wuchsstoff (29, 56), blieb aber bei *Sacch.carlsbergensis*, für das die unveresterte Verbindung voll aktiv war, ohne Wirkung (74, 75). Die gegenüber bestimmten Mikroorganismen verminderte Aktivität der Phosphorsäureester ist nach Ansicht von SNELL (102) auf die schlechtere Permeabilität ihrer Zellwände für diese Verbindungen zurückzuführen.

Die große Bedeutung der Aldehyd-Gruppe des Pyridoxals wird aus ihrer Umwandlung zur Aminomethylgruppe während der Transaminierung ersichtlich (Reaktion a)), S. 102). Die gleiche Wichtigkeit kommt der Aminomethylgruppe bei der Aminierung von Ketsäure zu (Reaktion b)). Die Hydroxymethylgruppe des Pyridoxals kann strukturgemäß an diesen Reaktionen nicht teilnehmen. Pyridoxol verdankt seine biologische Aktivität einer bisher nicht näher bekannten enzymatischen Umwandlung in Pyridoxalphosphat (38, 102, 109), die bei Säugetieren abläuft, nicht aber bei einigen Mikroorganismen, denen derartige Enzyme fehlen (18).

Mit der metallionen-katalysierten, nicht enzymatischen Transaminierungsreaktion zwischen Pyridoxal und Aminosäuren schufen SNELL u. M. (61) ein experimentelles System, daß zur Kenntnis des Mechanismus und der zur Transaminierung notwendigen Struktur Erhebliches beigetragen hat. METZLER u. M. (60) erarbeiteten als Minimumstruktur für den Katalysator nicht-enzymatischer Transaminierung diejenige von 2-Formyl-3-hydroxypyridin bzw. die seines elektronisch äquivalenten, aber bisher nicht verfügbaren Isomeren 3-Hydroxy-4-formylpyridin. Für eine dem Pyridoxal entsprechende coenzymatische Aktivität reichen diese Bausteine, wie später noch erläutert wird, nicht aus. Seit der

Strukturaufklärung von B₆-Faktoren wurden immer wieder analoge Substanzen synthetisiert und auf ihre Vitaminaktivität getestet. Eine der ersten war das Methoxypyridoxol, der 4-Methyläther (I) (Abb. 43) des Pyridoxols. UNNA (114) bestimmte seine Vitamin-B₆-Wirksamkeit an pyridoxin-verarmten Ratten mit Hilfe einer einzigen kurativen Dosis und erhielt einen Wert von nur ca. 2 % der Pyridoxolaktivität. Die 4-Äthyl-(II) (22) und 4-Butyläther (III) (92) (Abb. 43) zeigten die gleiche biologische Potenz wie die entsprechende Methylverbindung (20), wogegen sich der 4-Benzyläther(IV) (Abb. 43) als etwas weniger wirksam erwies (20).

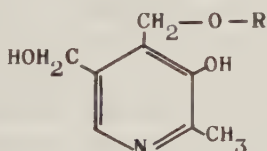
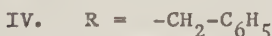
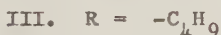
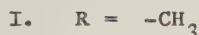


Abb. 43: 4-Äther des Pyridoxols



Die Aktivität dieser Verbindung in Vitamin B₆-Mangelratten beruht vermutlich auf der Spaltung ihrer Ätherbindungen (72). Überraschenderweise berichteten OTT (68) und MUSHETT u. M. (65) später, daß der 4-Methyläther bei Kücken und Hunden Antivitaminwirkung entfaltete, die allerdings bei Hunden nur schwach ausgeprägt war. MUSHETT u. M. (65) erklärten die schwache Antivitaminwirkung damit, daß ein Teil der verabreichten Methoxypyridoxol-Dosis vom Organismus zu Pyridoxoldemethyliert wird. PORTER u. M. (72) untersuchten die Wirkung des 4-Methyläthers auf die Harnausscheidung von Produkten des Vitamin B₆-abhängigen Tryptophanstoffwechsels bei normalen und Pyridoxin-

verarmten Tieren. Als pathologische Bestandteile erscheinen im Harn B₆-defizienter Ratten Kynurenin (53) und Xanthurensäure (14, 49). Nach Beurteilung der Stoffwechselprodukte im Harn funktionierte Methoxypyridoxol in der normalen Ratte als Antivitamin, übte dagegen in B₆-verarmten Tieren Vitaminwirkung aus, die die Verfasser auf eine Spaltung der Methyläther-Bindung zurückführten (72). Die Bildung eines inneren Äthers zwischen den Hydroxylgruppen in Position 4 und 5 (23) verminderte die Vitaminaktivität gegenüber derjenigen des 4-Methyläthers noch weiter (114). Mit dem inneren Äther des Pyridoxols eng verwandt ist das Lakton von 2-Methyl-3-hydroxy-4-hydroxymethyl-5-carboxypyridin (114) (Abb. 44). Während diese Substanz in einer Dosis von 1 mg bei Vitamin B₆-Mangelratten keine Wirksamkeit entfaltete (114), förderte sie bei Küken das Wachstum und steigerte den Hämoglobingehalt des Blutes (90). Das von SCOTT u. M. (91) synthetisierte und von HUFF u. M. (37) aus dem Ham isolierte Lakton von 2-Methyl-3-hydroxy-4-carboxy-5-hydroxymethylpyridin zeigte sich bei Küken ebenso aktiv wie sein Isomeres (91) (Abb. 44).

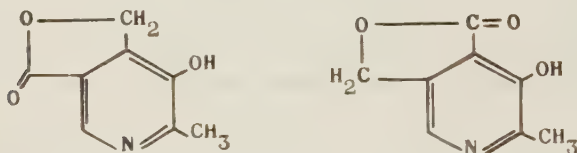


Abb. 44: Lakton von 2-Methyl-3-hydroxy-
4-hydroxymethyl-5-carboxypyridin
(links) und sein Isomeres (rechts)

Während die Verätherung der 4- bzw. 5-ständigen Hydroxyle die Aktivität der dadurch entstehenden Verbindungen stark herabsetzte, nahm die Veresterung der OH-Gruppen in 3, 4- und 5-Stellung mit wenigen Ausnahmen keinen Einfluß auf die Vitamin-

wirksamkeit. Diese Esterderivate verdanken ihre Aktivität vermutlich der Freisetzung von Pyridoxol bzw. seiner funktionellen Analogon durch Hydrolyse (95, 114). Als erster Ester des Pyridoxols wurden das Pyridoxyltriacetat (19, 40, 45) und -tribenzoat (40) bekannt. Wenig später gelang durch selektive Acetylierung die Darstellung des 3,5-Diacetylesther (25). Pyridoxyl-di- und -triacetat erwiesen sich bei Vitamin B₆-verarmten Ratten und in kultivierten Tomatenwurzeln (78) ebenso aktiv wie das Vitamin (114). Auch Pyridoxyltribenzoat diente der Ratte als Vitamin B₆-Quelle; die verwandten Ester Pyridoxyltri-p-nitro-benzoat und -tri-m-benzoat zeigten dagegen sehr geringe Wirksamkeit (83). SAKURAGI u. M. (81) synthetisierten eine Reihe langkettiger Fettsäureester des Pyridoxins wie Pyridoxyltripalmitat, -trilinoleat-trioctanoat, Pyridoxal-3,5-dipalmitat, Pyridoxamin-3,5-dipalmitat, etc. Auch diese Derivate besaßen bei der Ratte Vitamin B₆-Aktivität. Pyridoxyltripalmitat, -trilinoleat und -3,5-dipalmitat zeigten sich bei B₆-defizienten Ratten nach oraler Verabreichung ebenso wirksam wie Pyridoxolhydrochlorid (83, 95). Dagegen hatte weder das 3,5-Dipalmitat noch das Tripalmitat oder das Trilinoleat (82, 95) wachstumsfördernde Wirkung auf *Sacch. carlsbergensis*. SHINTANI u. M. (94) untersuchten die Fähigkeiten der Pyridoxylpalmitate, dem krampferzeugenden B₆-Antagonisten 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethyl-pyrimidin (OMP) bei Mäusen entgegenzuwirken. Sowohl das Di- als auch das Tripalmitat verringerten nach oraler Applikation die Empfindlichkeit der Tiere gegen das Krampfgift. Intraperitonäal injiziertes Pyridoxylpalmitat besaß dagegen nur geringe Wirksamkeit. Das von UCHIBAYASHI (110) erstmals synthetisierte 3,4-Dipalmitat des Pyridoxols inhibierte die OMP-Wirkung in demselben Maß wie Pyridoxol. Aus der Fettlöslichkeit (80) der Fettsäureester des Pyridoxols ergaben sich für den Stoffwechsel dieser Verbindungen einige Besonderheiten gegenüber dem der wasserlöslichen Derivate. Zwar stieg der Pyridoxinspiegel der Leber nach Pyridoxyltrilinoleat-Zufuhr zur gleichen Höhe wie nach Verabreichung einer äquivalenten Menge des Hydrochlorids, aber Pyridoxyltrilinoleat vermochte den Vitamin-B₆-Spiegel in diesem

Organ über längere Zeit hochzuhalten, als die wasserlösliche Verbindung (82). Auch Harnausscheidungsteste wiesen darauf hin, daß Pyridoxol in Form der Fettsäureester länger im Organismus zurückgehalten wurde, da in den ersten 10 Stunden nach Verabreichung von Pyridoxyltrioctanoat bzw. -trilinoleat die Exkretionsrate für Vitamin B₆ 2-3 fach geringer war als nach Aufnahme des Hydrochlorids (82). Außerdem schien der Tripalmitatester gegenüber einer Zerstörung durch die Darmflora weniger empfindlich (83).

Weitere Derivate der 4-ständigen Substituenten liegen in den Hydrazonen und Hydrazinen des Pyridoxals und Pyridoxamins vor (Abb. 45).

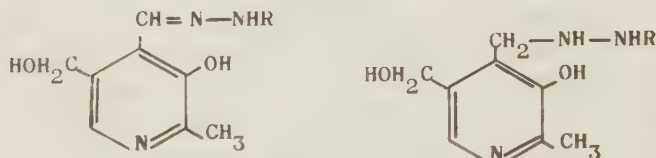


Abb. 45: Pyridoxal-hydrazone (links)
Pyridox-Hydrazin (rechts)

Verbindungen dieses Typs gewannen zunächst Interesse wegen ihrer chemischen Verwandtschaft zum bekannten Tuberkulose-Heilmittel Isonicotinylhydrazid (12, 119). Erst später wurden auch ihre Eigenschaften als Pyridoxin-Derivate untersucht. SAH (79) berichtete, daß die Nicotinyl- bzw. Isonicotinylhydrazon-Derivate des Pyridoxals die gleiche Aktivität besäßen wie Vitamin B₆. Über die Art des Testorganismus wurde keine Mitteilung gemacht. TESTA u. M. (108) synthetisierten N-Acetylpyridoxalhydrazon, N-Acetylpyridoxhydrazin, N-Dimethyl-aminoacetyl-pyridoxhydrazin und testeten ihre Wirksamkeit als Vitamin B₆ mit Sacch. carlsbergensis ATCC 4228. Der oben stehenden Reihenfolge entsprechend besäßen diese Verbindungen ungefähr 1/2, 1/7 bzw. 1/3 der Pyridoxinaktivität.

Da sich Pyridoxal, um seine transaminierende bzw. decarboxylierende Wirkung an Aminosäuren ausüben zu können, mit ihnen zu Pyridoxyliminen verbindet (5, 102) (Abb. 46), interessierte auch die biologische Aktivität dieser Schiffsschen Basen und analoger Verbindungen von Pyridoxal und Aminosäure. HEYL u. M. (30) stellten durch Kondensation von Pyridoxal mit verschiedenen Aminosäuren wie DL-Alanin, DL-Glutaminsäure, L-Glutaminsäure, DL-Isoleucin, DL-Leucin, L-Lysin, DL-Methionin etc. 18 Pyridoxylaminosäuren dar (Abb. 46), die SNELL u. M. (105) in ihrer Wachstumswirkung auf *Sacch. carlsbergensis*, *Str. faecalis* und *Lb. casei* testeten; keine dieser Substanzen besaß mehr als 0.5 % der Pyridoxalaktivität für diese Organismen. Für einen Stamm von *Neurospora sitophila* stieg die Aktivität einiger Pyridoxylaminosäuren bis 1 %. Bei der Ratte zeigten diese Verbindungen zwar feststellbare, aber doch sehr begrenzte Wirksamkeit. Dagegen besaß eine wässrige Lösung von Pyridoxylaminosäuren nach dem Erhitzen hohe Aktivität, die auf die Bildung von Pyridoxal bzw. Pyridoxamin durch oxydative bzw. hydrolytische Spaltung zurückgeführt wurde, vermutlich über eine Schiffssche Base als Zwischenprodukt (105). Diese Vermutung wurde dadurch unterstützt, daß Pyridoxylidenanilin und andere untersuchte Schiffssche Basen als ebenso aktiv befunden wurden wie Pyridoxal (105).

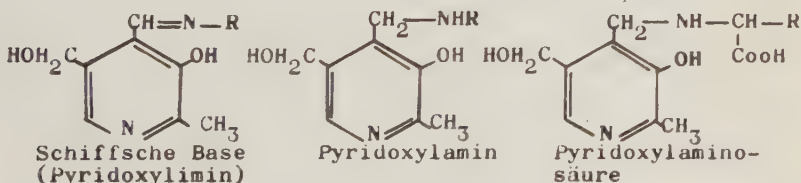


Abb. 46

Durch Kondensation des Pyridoxals mit primären Aminen und nachfolgender Reduktion der sich bildenden Schiff'schen Base entstanden verschiedene Pyridoxylamine (33, 36) (Abb. 46). Sie umfaßten Verbindungen wie Pyridoxyltryptamin, Pyridoxyl- β -phenyläthylamin, Pyridoxyltyramin, Pyridoxylbenzylamin, Pyridoxyl-äthylamin, Pyridoxyl-3-phenylpropylamin, Pyridoxyl-3,4-dihydroxyphenäthylamin, Pyridoxyl-DL-arterenol etc. Alle diese Verbindungen besaßen 50 - 100 % der Pyridoxalaktivität bei Ratten mit Ausnahme der beiden letzten, die nur 10 - 20 % aufwiesen (36). Die geringere Potenz dieser zwei letzten Verbindungen wurde damit zu erklären versucht, daß sie durch Anwesenheit von zwei Ortho - Hydroxygruppen zum Teil oxydativ zerstört werden, bevor sie Vitamin-Enzym-Systeme bilden (36). SAKURAGI u. M. (84) untersuchten Äthyl-N-pyridoxyl-p-aminobenzoat und -m-aminobenzoat, deren Wirksamkeit auf das Wachstum von Ratten 100 %, auf das von Sacch. carlsbergensis 20 bzw. 41 % der des freien Pyridoxins betrug. Die hohe Wirksamkeit der synthetischen Pyridoxylamine und die Erfahrung, daß vergleichbare Strukturänderungen bei anderen wasserlöslichen Vitaminen stets von einem erheblichen Wirkungsverlust begleitet wurden, ließen HEYL u. M. (36) daran denken, daß Verbindungen diesen Typs als Glieder der B₆-Gruppe oder als Zwischenprodukte ihrer Funktion in lebenden Systemen vorkommen. RABINOWITZ u. M. (77) stellten dagegen fest, daß Pyridoxylamine für Sacch. carlsbergensis nur unbedeutende Wirksamkeit aufwiesen; Pyridoxyläthylamin war die einzige Verbindung, deren biologische Potenz für diese Mikroorganismen einen Wert von mehr als 1.8 % der Pyridoxalaktivität erreichte. Bei Neurospora sitophila aber entfalteten einige Pyridoxylamine fast die gleiche Aktivität wie Pyridoxal. Da die Pyridoxylamine demnach keine allgemeine Brauchbarkeit als B₆-Quelle besaßen, äußerten RABINOWITZ u. M. (77) Bedenken gegen die von HEYL u. M. (36) ausgesprochene Ansicht. Sie waren vielmehr der Meinung, daß Pyridoxylamine nicht per se aktiv sind, sondern ihre Wirksamkeit bei Ratten und Neurospora sitophila einem enzymatischen Abbau zum freien Vitaminfragment verdanken.

Die mehr oder minder hohe Wirksamkeit der an ihrer 4-ständigen $\text{CH}_2\text{-OH}$, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ bzw. COH -Gruppe modifizierten Substanzen zeigte deutlich, daß nur solche Änderungen der funktionellen Gruppe ohne stärkeren Einfluß auf die Aktivität sind, die sich durch enzymatische Umwandlung in die ursprüngliche Gruppe leicht rückgängig machen lassen. Der Befund, daß ein und dieselbe Verbindung in verschieden gebauten Organismen unterschiedliche Aktivität entfaltet, kann so mit deren unterschiedlichen Fähigkeit, die enzymatische Rückverwandlung zu vollziehen, erklärt werden. Die Unentbehrlichkeit der funktionellen Gruppen in Position 4 für ein Vitamin B_6 -aktives Molekül geht auch daraus hervor, daß 4-Desoxypyridoxol (Abb. 47), dessen vierständige Hydroxymethylgruppe durch eine Methylgruppe ersetzt wurde, als Antivitamin fungiert. Jedoch soll dieser Vitamin- B_6 -Antagonist ebenso wie 5-Desoxypyridoxol bei *Candida albicans* die gleiche wachstumsstimulierende Wirkung besitzen wie Pyridoxamin und Pyridoxol (50a). Diese Methylgruppe läßt sich nämlich nicht auf enzymatischem Wege in die Aldehydgruppe umwandeln (18). Aus diesem Grunde blieb die Beobachtung von LANG (48), daß die mikrozytäre Anämie mit Desoxypyridoxol behandelte Hunde im Laufe der Zeit spontan in einem mehr oder minder erheblichen Ausmaß zurückgeht, was eine gewisse Vitaminwirkung des Desoxypyridoxols für Hunde vermuten ließ, bisher ungeklärt.

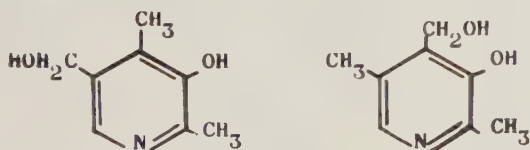


Abb. 47: 4-Desoxypyridoxol (links)

5-Desoxypyridoxol (rechts)

Während sich die Hydroxymethylgruppe in Position 5 für die nicht-enzymatische Transaminierungsreaktion in vitro entbehrlich zeigte (102), ist sie für die coenzymatische Aktivität der B₆-Faktoren in vivo essentiell, da durch sie die Veresterung zum biologisch aktiven Phosphat stattfindet. Mit Hilfe der 5-Phosphorsäure-Gruppe wird das Coenzym an das entsprechende Apoenzym angehängt (3, 34). Verbindungen wie die 5-Desoxyanalogen (Abb. 47), in denen eine Phosphorylierung der 5-ständigen Hydroxygruppe unmöglich ist, besitzen nicht nur keine Vitaminaktivität, sondern wirken als Inhibitoren der Vitamin B₆-abhängigen Enzyme (31). HARRIS u. M. (27) bewiesen die Unentbehrlichkeit der 4- und 5-ständigen Hydroxymethylgruppen durch die Synthese des 4-Hydroxyisochinolin-Derivates, das in einer 50 fach höheren Dosis als die wirksame Vitamindosis bei B₆-deficienten Ratten keine Pyridoxinaktivität zeigte.

BENNETT u. M. (3) studierten die Bedeutung der Phosphorsäure-Gruppe im Coenzymmolekül, indem sie diese durch eine Phosphat-Gruppe ersetzen. Die allgemeine Formel dieser Verbindungen wurde wie folgt dargestellt, wobei R für Isopropyl oder H- und X für -H, OH oder NH₂ stand. Im Test mit einer zellfreien Transaminase zeigten die Phosphat-Derivate weder Pyridoxal-phosphataktivität noch vermochten sie Pyridoxalphosphat vom Apoenzym zu verdrängen (Abb. 48).

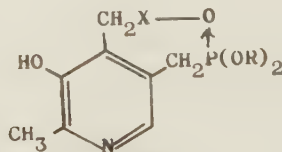


Abb. 48: Phosphonat (3)

II. Änderungen der 2-ständigen Methylgruppe

Obwohl sich die Methylgruppe in 2-Stellung des Pyridoxalmoleküls bei der chemischen Transaminierung ohne offensichtlichen Effekt auf die Reaktion durch eine Äthylgruppe ersetzen ließ (V) (102) (Abb. 49), verminderte dieselbe Modifikation die Vitamin-B₆-Aktivität des Pyridoxals in vivo erheblich. Das von HARRIS u. M. (28) erstmals synthetisierte Äthylhomologe zeigte im kurativen Test mit einer einzigen Dosis bei Pyridoxin-verarmten Ratten weniger als 2 % der Vitamin-B₆-Wirksamkeit (114). Dagegen förderte es das Wachstum kultivierter Tomatenwurzeln in demselben Maß wie Pyridoxol (78). OLIVARD u. M. (67) verglichen die Wirkung der Äthylhomologen und ihrer Phosphate, die sie als ω -Methylderivate bezeichneten, auf das Wachstum und die Aktivität razemisierender und transaminierender Enzyme von *Str. faecalis* unter Bedingungen, wo Inaktivität eines dieser Enzyme das Wachstum des Mikroorganismus begrenzte. Alle ω -Methylderivate konnten das Wachstum von *Str. faecalis* unterhalten. ω -Methylpyridoxalphosphat aktivierte sowohl die Alanin-Aporacemase als auch die Alanin-Glutaminsäure-Apotransaminase dieses Organismus. Allerdings betrug seine Affinität zur Aporacemase nur ungefähr 1/10 derjenigen des Pyridoxalphosphates. Daneben verminderte sich auch die Affinität von Alanin-Racemase zu ihrem Substrat, wenn die Coenzymfunktion von ω -Methylpyridoxalphosphat erfüllt wurde. Dafür, daß auch die Transaminase bei entsprechendem Ersatz des Coenzym an Affinität zu ihrem Substrat verliert, gab es nur indirekte Beweise (67).

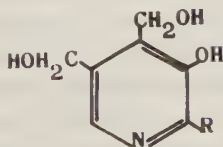
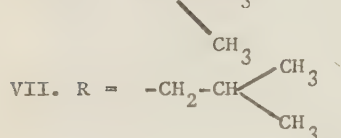
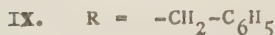
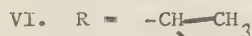
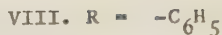
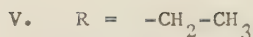


Abb. 49: Änderungen der 2-ständigen Methylgruppen



Unter den von DAVOLL u. M. (11) dargestellten 2-Isopropyl-(VI) (Abb. 49), 2-Isobutyl-(VII) (Abb. 49) und 2-Phenyl-Derivaten (VIII) (Abb. 49) des 3-Hydroxy-4,5-bishydroxymethylpyridins besaß nur das Isopropylanaloge bei *Neurospora sitophila* in Anwesenheit von Pyridoxin 400 fach geringere Vitaminwirksamkeit. Das Benzyl-Analoge (IX) (Abb. 49) von COHEN u. M. (8) erwies sich bei dem gleichen Mikroorganismus in Anwesenheit von Pyridoxin als 5000 mal schwächer wirksam.

III. Änderungen der 3-ständigen phenolischen Hydroxygruppe

Schon bei rein chemischer, nicht-enzymatischer Transaminierung zeigte es sich, daß eine unsubstituierte Phenolgruppe für diese Reaktion notwendig ist, denn 3-O-Methylpyridoxal, dessen phenolische Hydroxygruppe veräthert wurde, ließ sich nicht transaminieren (60). Dementsprechend besaß das 3-Methoxy-Analoge des Pyridoxols bei Vitamin B₆-Mangelratten nur 2 % der Vitaminaktivität (114). Das 3-Aminoanaloge (42) verhielt sich bei Ratten völlig unwirksam (96). Dagegen beeinflusste die schon erwähnte Veresterung der 3-Hydroxygruppe bei der Darstellung von Trifettsäureestern des Pyridoxols die Vitaminaktivität des Moleküls nicht, solange der Organismus die Hydrolyse der Esterbindung vollziehen konnte (19, 81). Das von ICHIBA u. M. (41) und JONES (42) dargestellte 3-Deshydroxypyridoxol wurde leider nicht auf seine biologische Aktivität untersucht.

SCUDI u. M. (93) berichteten von einer interessanten Komplexbildung des Pyridoxols mit Borsäure (Abb. 50), die die Substituenten in 3- und 4-Stellung des Moleküls in die Reaktion mit einbezieht. Dieser Pyridoxol-Borsäure-Komplex besitzt bei B₆-defizienten Ratten beträchtlich geringere Aktivität als gleiche Gewichtsmengen des Vitamins. Es wird vermutet, daß seine Wirksamkeit auf der Freisetzung von Pyridoxol im Organismus beruht (93).

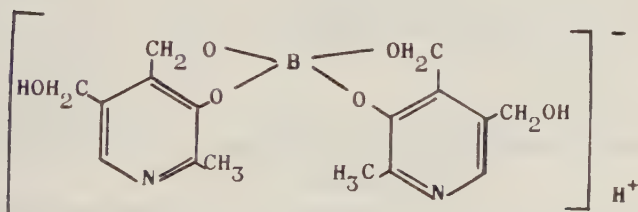


Abb. 50: Borsäure-Pyridoxol-Komplex

IV. Änderungen des heterozyklischen Stickstoffatoms

Bereits aus dem Verhalten des Salicylaldehyds, welcher die chemische Transaminierungsreaktion nicht ablaufen ließ, wurde die essentielle Rolle des heterozyklischen Stickstoffatoms des Pyridoxals deutlich (60). Das von MC CASLAND u. M. (54) synthetisierte Pyrimidin-Analoge zeigte bei *Sacch.cerevisiae* weder Vitamin-noch Antivitaminwirkung (54). Dagegen machte JONES (43) die erstaunliche Beobachtung, daß das Benzolderivat Phthalylalkohol bei *Neurospora sitophila* in Abwesenheit von Vitamin B₆ ungefähr 1/500 der Vitaminaktivität ausübte.

Methylierung des N-Atoms wie in N-Methyl-Vitamin-B₆-Betain zerstörte die Pyridoxinwirksamkeit des Moleküls (27), während das

Pyridoxol nach N-Oxid-Bildung 15 % der Vitamin-B₆-Aktivität im Wachstumstest mit *Sacch. carlsbergensis* behielt (85) (Abb. 51).

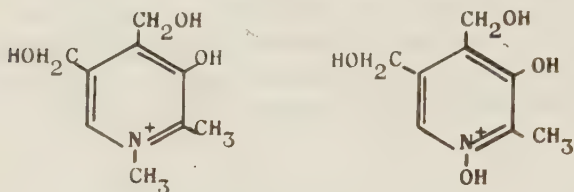


Abb. 51: N-Methyl-Vitamin-B₆-Betain (links)
Pyridoxol-N-Oxid (rechts)

V. Änderung der unsubstituierten 6-Stellung

Da weder das von JONES (43) synthetisierte 6-Hydroxymethyl-Analoge des Pyridoxols bei *E. coli* und *Str. viridans* noch das 6-Chlor-Analoge von BLACKWOOD u. M. (4) "in biologischen Systemen" Vitaminwirksamkeit besaß, hat es den Anschein, als ob auch die unsubstituierte 6-Stellung sehr spezifisch sei. HURWITZ (39) lieferte eine Erklärung für die Inaktivität dieser Verbindungen, indem er feststellte, daß die Kinase, welche Pyridoxal in Anwesenheit von ATP phosphoryliert, nur solche Pyridoxin-Analoge in Phosphate überführt, die in der 6-Stellung des Pyridinrings unsubstituiert sind.

VI. Änderung der Raumanordnung

Die Umstellung der Substituenten in den drei Vitaminmolekülen hatte entweder den Verlust der Wirksamkeit (32, 43, 52) oder die Entstehung antagonistischer Substanzen zur Folge (43).

C. Zusammenfassung

Tab. 4: Übersicht über die in Teil B abgehandelten Vitamin-B₆-
verwandten Verbindungen und ihre biologische Aktivität

Vitamin-B ₆ -verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität/Mol im Vergleich zu Pyridoxol	
	B ₆ -Mangel-Ratte	S. carlsbergensis
Pyridoxal	100 % (wenn i.p. injiziert oder se- parat vom Futter verabreicht)	100 %
Pyridoxamin		100 %
A e t h e r		
4-Methyläther des Pyridoxols	2 % (Antivitamin für die normale Ratte)	
4-Äthyläther des Pyridoxols	2 %	
4-Butyläther des Pyridoxols		
4-Benzyläther des Pyridoxols	2 %	
L a k t o n e		
Lakton des 2-Methyl- 3-Hydroxy-4-hydroxy- methyl-5-carboxypyridin	-	
Lakton des 2-Methyl- 3-hydroxy-4-carboxy- 5-hydroxy-methylpyridin	-	
E s t e r		
Pyridoxyl-3,4,5-triacetat		
Pyridoxyl-3,4,5-trilino- leat	100 %	-
Pyridoxyl-3,4,5-tripalmitat		
Pyridoxyl-3,5-dipalmitat	100 %	-
Pyridoxyl-3,5-diacetat		
Pyridoxyl-p-nitrobenzoat	sehr geringe	
Pyridoxyl-tri-m-benzoat	Wirksamkeit	

Fortsetzung Tab. 4

Vitamin-B ₆ -verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität/Mol im Vergleich zu Pyridoxol	
	B ₆ -Mangel-Ratte	S. carlsbergensis
H y d r a z o n e u. H y d r a z i n e N-Acetylpyridoxalhydra- zon N-Acetylpyridoxhydrazin N-Dimethyl-aminoacetyl- pyridoxhydrazin		50 % 14 % 33 %
P y r i d o x y l - - a m i n e Pyridoxyltryptamin Pyridoxyl-β-phenyl- äthylamin Pyridoxylamin Pyridoxylbenzylamin etc. Pyridoxyl-3,4-dihydroxy- phenäthylamin Pyridoxyl-DL-arterenol Äthyl-N-pyridoxyl-p- amino-benzoat Äthyl-N-pyridoxyl-m- amino-benzoat	50 - 100 % 10 - 20 % 100 %	20 % 41 %
D e s o x y - Verbindun- gen 4-Desoxypyridoxol 5-Desoxypyridoxol	Antivitamin "	

Fortsetzung Tab. 4

Vitamin-B ₆ -verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität/Mol im Vergleich zu Pyridoxol	
	B ₆ -Mangel-Ratte	S. carlsbergensis
Sonstige Verbindungen		
2-Äthylpyridoxol	2 %	
3-Methoxypyridoxol	2 %	
3-Aminopyridoxol	-	
Pyridoxol-Borsäure-Komplex	beträchtlich geringere Aktivität	
N-Methyl-Vitamin B ₆ -Betain		-
Pyridoxol-N-Oxid		15 %

D. Literaturnachweis:

Vitamin-B₆-wirksame Substanzen

1. BADDILEY, J., E.F. GALE: Nature 155, 727 (1945)
2. BELLAMY, W.D, I.C. GUNSALUS: J. Bacteriol. 48, 191 (1944)
3. BENNETT, R., A. BURGER; W.W. UMBREIT: J. Med. Pharm. Chem. 1, 213 (1959)
4. BLACKWOOD, R.K.; G.B. HESS, C.E. LARRABEE, F.J. PILGRIM: J. amer. chem. Soc. 80, 6244 (1958)
5. BRAUNSTEIN, A.E., M.M. SHEMIKIN: Doklady Akad. Nauk. S.S.R. 85, 1115 (1952); C.A. 47, 626 (1953)
6. CARPENTER, L.E., C.A. ELVEHJEM, F.M. STRONG: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 54, 123 (1943)
7. CARPENTER, L.E., F.M. STRONG: Arch. Biochem. 3, 375 (1944)
8. COHEN, A, J.A. SILK: J. chem. Soc. 4386 (1952)
9. Commission on the nomenclature of biological chemistry: J. amer. chem. Soc. 82, 5581 (1960)
10. CREIGHTON, T.E., C. YANOFSKY: J. biol. Chem. 241, 980 (1966)
11. DAVOLL, H., F.B. KIPPING: J. chem. Soc. 1395 (1953)
12. EMOTO, S.: J. Sci. Res. Inst. (Tokyo) 47, 37 (1953); C.A. 48, 12096 (1954)
14. FOUTS, P.J., S. LEPKOVSKY: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 50, 221 (1942)
13. EVENSON, A., E. MC COY, R.R. GEYER, C.A. ELVEHJEM: J. Bacteriol. 51, 513 (1946)
15. GALE, E.F., H.R. EPPS: Biochem. J. 38, 250 (1944)
16. GUNSALUS, I.C., W.D. BELLAMY: J. biol. Chem. 155, 357 (1944)
17. GUNSALUS, I.C., W.D. BELLAMY, W.W. UMBREIT: J. biol. Chem. 155, 685 (1944)
18. HACHOVA, E., V. HACH: in J. FRAGNER: Vitamine, II, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1965, S. 1307
19. HARRIS, S.A.: J. amer. chem. Soc. 62, 3203 (1940)
20. HARRIS, S.A.: ibid. 63, 3363 (1941)
21. HARRIS, S.A., K. FOLKERS: Science 89, 347 (1939)
22. HARRIS, S.A., K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 61, 1245 (1939)
23. HARRIS, S.A., K. FOLKERS: ibid. 61, 3307 (1939)
24. HARRIS, S.A., D. HEYL, K. FOLKERS: J. biol. Chem. 154, 315 (1944)

25. HARRIS, S.A., D. HEYL, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 66, 2088 (1944)
26. HARRIS, S.A., E.T. STILLER, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 61, 1242 (1939)
27. HARRIS, S.A., T.J. WEBB, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 62, 3198 (1940)
28. HARRIS, S.A., A.N. WILSON: J. amer. chem. Soc. 63, 2526 (1941)
29. HENDLIN, D., M.C. CASWELL, V.J. PETERS, T.R. WOOD: J. biol. Chem. 186, 647 (1950)
30. HEYL, D., S.A. HARRIS, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 70, 3429 (1948)
31. HEYL, D., S.A. HARRIS, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 75, 653 (1953)
32. HEYL, D., E. LUZ, S.A. HARRIS: ibid. 78, 4474 (1956)
33. HEYL, D., E. LUZ, S.A. HARRIS, K. FOLKERS: ibid. 70, 3669 (1948)
34. HEYL, D., E. LUZ, S.A. HARRIS, K. FOLKERS: ibid. 73, 3430 (1951)
35. HEYL, D., E. LUZ, S.A. HARRIS, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 73, 3436 (1951)
36. HEYL, D., E. LUZ, S.A. HARRIS, K. FOLKERS: ibid. 74, 414 (1952)
37. HUFF, J.W., W.A. PERLZWEIG: Science 100, 25 (1944)
38. HURWITZ, J.: J. biol. Chem. 205, 935 (1953)
39. HURWITZ, J.: J. biol. Chem. 217, 513 (1955)
40. ICHIBA, A., K. MICHI: Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo) 35, 73 (1938)
41. ICHIBA, A., K. MICHI, S. EMOTO: J. Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo) 39, 126 (1941); C.A. 41, 6246 (1947)
42. JONES, R.G., E.C. KORNFELD: J. amer. chem. Soc. 73, 107 (1951)
43. JONES, R.G.: ibid. 74, 1489 (1952)
44. KUHN, R., H. ANDERSAG, K. WESTPHAL, G. WENDT: Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 309 (1939)
45. KUHN, R., G. WENDT: ibid. 71, 780, 1118 (1938)
46. KUHN, R., K. WESTPHAL, G. WENDT, O. WESTPHAL: Naturwiss. 27, 469 (1939)
47. KURODA, T.: J. Vitaminol. (Kyoto) 10, 252 (1964)
48. LANG, K.: Dtsch. Med. Rdsch. 3, 1048 (1949)

49. LEPKOVSKY, S., E. ROBOZ, A.J. HAAGEN-SMIT: J. biol. Chem. 149, 195 (1943)
50. LICHSTEIN, H.C., I.C. GUNSALUS, W.W. UMBREIT: ibid. 161, 311 (1945)
- 50a. LITTMANN, M.L. u. T. MIWATAMI: Mycopathologia 21, 81 (1963)
51. LUCKEY, T.D., G.M. BRIGGS, Jr.; C.A. ELVEHJEM, E.B. HART: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 58, 340 (1945)
52. MARIELLA, R.P., E.P. BELCHER: J. amer. chem. Soc. 74, 4049 (1952)
53. MATSUOKO, Z., N. YOSHIMATSU: Z. physiol. Chem. 143, 206 (1925); zit. nach PORTER et al.: J. biol. Chem. 167, 573 (1947)
54. MC CASLAND, G.E., D.S. TARBELL: J. amer. chem. Soc. 68, 2393 (1946)
55. MC NUTT, W.S., E.E. SNELL: J. biol. Chem. 173, 801 (1948)
56. MC NUTT, W.S., E.E. SNELL: ibid. 182, 557 (1950)
57. MEISTER, A., H.A. SOBER, E.A. PETERSON: J. amer. chem. Soc. 74, 2385 (1952)
58. MEISTER, A., H.A. SOBER, E.A. PETERSON: J. biol. Chem. 206, 89 (1954)
59. MEISTER, A. H.A. SOBER, S.V. TICE: J. biol. Chem. 189, 577 (1951)
60. METZLER, D.E., M. IKAWA, E.E. SNELL: J. amer. chem. Soc. 76, 648 (1954)
61. METZLER, D.E., E.E. SNELL: J. amer. chem. Soc. 74, 979 (1952)
62. METZLER, D.E., E.E. SNELL: J. amer. chem. Soc. 77, 2431 (1955)
63. MILLER, E.C., C.A. BAUMANN: J. biol. Chem. 157, 551 (1945)
64. MILLER, E.C., C.A. BAUMANN: J. biol. Chem. 159, 173 (1945)
65. MUSHETT, C.W., R.B. STEBBINS, M.W. BARTON: Trans N.Y. Acad. Sci. 9 (1947) 291; zit. nach J. FRAGNER: Vitamine II, Gustav Fischer Verlag, Jena 1965, S. 1350
66. Nutrition Rev. 11, 213 (1953)
67. OLIVARD, J., E.E. SNELL: J. biol. Chem. 213, 203, 215 (1955)
68. OTT, W.H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 66, 216 (1947)
69. PETERSON, E.A., H.A. SOBER: J. amer. chem. Soc. 76, 169 (1954)
70. PETERSON, E.A., H.A. SOBER; A. MEISTER: Fed. Proc. 11, 268 (1952)
71. PETERSON, E.A., H.A. SOBER, A. MEISTER: J. amer. chem. Soc. 74, 570 (1952)
72. PORTER, C.C., I. CLARK, R.H. SILBER: J. biol. Chem. 167, 573 (1947)

73. PORTER, J.R., L.F. RETTGER: J. infect. Dis. 66, 104 (1940);
zit. nach SARMA et al.: J. biol. Chem. 165, 55 (1946)
74. RABINOWITZ, J.C., E.E. SNELL: J. biol. Chem. 169, 643 (1947)
75. RABINOWITZ, J.C., E.E. SNELL: Anal. Chem. 19, 277 (1947)
76. RABINOWITZ, J.C., E.E. SNELL: J. biol. Chem. 176, 1157 (1948)
77. RABINOWITZ, J.C., E.E. SNELL: J. amer. chem. Soc. 75, 998
(1953)
78. ROBBINS, W.J.: Amer. J. Bot. 29, 241 (1942); C.A. 36, 3826
(1942)
79. SAH, P.P.T.: J. amer. chem. Soc. 76, 300 (1954)
80. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: J. Am. Oil Chem. Soc. 33, 116
(1956); zit. nach SAKURAGI et al.: J. Nutr. 58, 557 (1956)
81. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: J. amer. chem. Soc. 78, 839 (1956)
83. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: J. Nutr. 58, 557 (1956)
82. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: Arch. Biochem. 63, 32 (1956)
84. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: Arch. Biochem. 73, 43 (1958)
85. SAKURAGI, T., F.A. KUMMEROW: J. org. Chem. 24, 1032 (1959)
86. SARMA, P.S., E. E. SNELL, C.A. ELVEHJEM: Proc. Soc. exp.
Biol. Med. 64, 284 (1946)
87. SARMA, P.S., E.E. SNELL, C.A. ELVEHJEM: J. biol. Chem. 165,
55 (1946)
88. SCHLENK, F., A. FISHER: Arch. Biochem. 12, 69 (1947)
89. SCHLENK, F., E.E. SNELL: J. biol. Chem. 157, 425 (1945)
90. SCOTT, M.L., L.C. NORRIS, G.F. HEUSER, W.F. BRUCE, H.W. COOVER,
Jr., W.D. BELLAMY, I.C. GUNSALUS: J. biol. Chem. 154, 713
(1944)
91. SCOTT, M.L., L.C. NORRIS, G.F. HEUSER, W.F. BRUCE: J. amer.
chem. Soc. 67, 157 (1945)
92. SCUDI, J.V.: J. biol. Chem. 139, 707 (1941)
93. SCUDI, J.V., W.A. BASTEDO, T.J. WEBB: J. biol. Chem. 136,
399 (1940)
94. SHINTANI, S., F. TANAKA, M. NAKAMURA, M. SATO: J. Vitaminol.
7, 122 (1961)
95. SHINTANI, S., F. TANAKA, M. NAKAMURA, M. SATO: J. Vitaminol.
7, 182 (1961)
96. SHIROISHI, M., C. FUKAI, T. MASUHARA, Y. SAKURAI: Rep. Food
Res. Inst. (Tokyo) 6, 135 (1952); C.A. 49, 16 104 (1955)
97. SNELL, E.E.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 51, 356 (1942)
98. SNELL, E.E.: J. biol. Chem. 154, 313 (1944)
99. SNELL, E.E.: J. amer. chem. Soc. 67, 194 (1945)

100. SNELL, E.E.: J. biol. Chem. 157, 491 (1945)
101. SNELL, E.E.: Physiol. Rev. 33, 509 (1953)
102. SNELL, E.E.: Vitamins Hormones 16, 77 (1958)
103. SNELL, E.E., B.M. GUIRARD, R.J. WILLIAMS: J. biol. Chem. 143, 519 (1942)
104. SNELL, E.E., D.E. METZLER: Ann. Rev. Biochem. 25, 435 (1956)
105. SNELL, E.E., J.C. RABINOWITZ: J. amer. chem. Soc. 70, 3432 (1948)
106. SNELL, E.E., A.N. RANNEFELD: J. biol. Chem. 157, 475 (1945)
107. STILLER, E.T., J.C. KERESZTESY, J.R. STEVENS: J. amer. chem. Soc. 61, 1237 (1939)
108. TESTA, E., A. BONATI, G. PAGANI: Chimia 15, 314 (1961)
109. TRUFANOV, A.F., J.A. KIRSANOVA: Byull. Eksptl. Biol. Med. 22, No. 6, 40 (1946); C.A. 23, 7485 c (1947)
110. UCHIBAYASHI, M.: Chem. Pharm. Bull. Japan 9, 182 (1961)
111. UMBREIT, W.W., I.C. GUNSALUS: J. biol. Chem. 159, 333 (1945)
112. UMBREIT, W.W., I.C. GUNSALUS: ibid. 179, 279 (1949)
113. UMBREIT, W.W., D.J. O'KANE, I.C. GUNSALUS: ibid. 176, 629 (1948)
114. UNNA, K.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 43, 122 (1940)
115. WAL, B. VAN DER, T.J. BOER, H.O. HUISMAN: Rec. trav. chim. Pays-Bas 80, 221 (1961)
116. WILLIAMS, R.J., R.E. EAKIN, E. BEERSTECHEER, JR., W SHIVE: The Biochemistry of B Vitamins. Reinhold Publ. Corporation N.Y. 1950, S. 656-657
117. WILSON, A.N., S.A. HARRIS: J. amer. chem. Soc. 73, 4693 (1951)
118. WOOD, W.A., I.C. GUNSALUS: J. biol. Chem. 190, 403 (1951)
119. YALE, H.L., K. LOSEE, F. MARTINS, M. HOLSING, F.M. PERRY, J. BERNSTEIN: J. amer. chem. Soc. 75, 1933 (1953)

Biotin-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil

Zu Beginn der vierziger Jahre konnten DU VIGNEAUD u. M. (24, 31, 49, 70) das Biotin (Abb. 52) als schwefelhaltige Monocarbonsäure, 2'-Oxo-3,4-imidazolidin-2-tetrahydrothiophen-n-valeriansäure, identifizieren. Demnach beteiligen sich am Aufbau dieses Vitaminmoleküls drei größere Bausteine: der in 2'-Stellung substituierte Imidazolidinring, der in 3,4-Stellung kondensierte Tetrahydrothio-

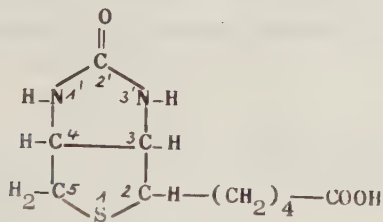
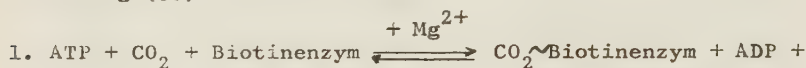


Abb. 52: Biotin

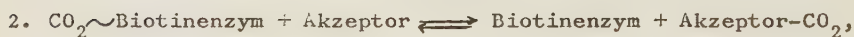
phanring und die letzterem in 2-Stellung angehängte Valeriansäure-Seitenkette. Für die sterische Beziehung der Bausteine im Molekül gilt auf Grund synthetischer Arbeiten (24, 57) und der Röntgenstrahlen-Analysen von TRAUB (66), daß nicht nur die beiden Ringsysteme in cis-Stellung zueinander stehen, sondern auch die Seitenkette zum Ring. Wie bei anderen Vitaminen folgte der Aufklärung der Biotinstruktur umfangreiche Arbeit zu der Frage, in welcher Beziehung die Bauweise des Vitamins zu seiner Wirksamkeit steht. Im physiologischen Verhalten verwandter Verbindungen zeigte sich, daß alle Modifikationen der Molekülarchitektur mit Ausnahme der von Oxybiotin wirkungsvermindernd sind (3). Die Ausführung über die Wirksamkeit von Biotinanalogen wird dadurch erschwert, daß ein und dieselbe Molekül-Abwandlung bei verschiedenen Arten höherer oder niederer Lebewesen nicht nur mit verschiedenem Wirkungsverlust einhergeht, sondern auch wie im Falle des Desthiobiotins bzw. Biotinsulfons für bestimmte

Organismen zur Antibiotinbildung führt. Zum besseren Verständnis des Folgenden sei zunächst kurz das umrissen, was bisher über die Wirkungsweise des Biotinmoleküls bekannt ist.

Biotin wurde als prosthetische Gruppe einer Reihe von Enzymen entdeckt, deren Aufgabe die Katalyse von Carboxylierungs- und Transcarboxylierungsreaktionen ist (43, 53, 67, 71, 72, 76). Der Einbau des Biotins in die Enzymproteine erfolgt durch eine peptidartige Bindung, indem die Carboxygruppe der Seitenkette mit einer Aminogruppe des Enzymeiweiß reagiert (34). Zum Wirkungsmechanismus der Biotinenzyme wurden in den letzten Jahren zwei Vorschläge gemacht (61). KNAPP u. M. (36) sahen das 1'-N-Carboxybiotinenzym (I) (Abb. 53) als die aktive Form der Biotinenzyme an und formulierten die Carboxylierung von Biotin in der Gleichung (35):



Orthophosphat



wobei der Akzeptor häufig ein Acyl-Coenzym A ist.

WAITE u. M. (71) schlugen dagegen die beiden folgenden Verbindungen (II u. III) (Abb. 53) als aktive Formen der Biotinenzyme vor.

Im Falle von II, dem unveränderten Biotinenzym, soll die Carbonylgruppe des Imidazolidinringes auf ein Acyl-Coenzym A übertragen werden, das mit Wasser unter Bildung von Carbonsäure reagiert. Das dabei entstehende Diaminobiotinenzym könnte sich durch Reaktion mit HCO_3^- in II zurückbilden. Im Falle von III, dem carboxylierten Diaminobiotinenzym, nahmen die Autoren an, daß das Acyl-Coenzym A die Carbonylgruppe in der Carboxylgruppe angreift unter Bildung von Carbonsäure und Diaminobiotinenzym, welches sich wieder mit Hilfe von HCO_3^- regeneriert.

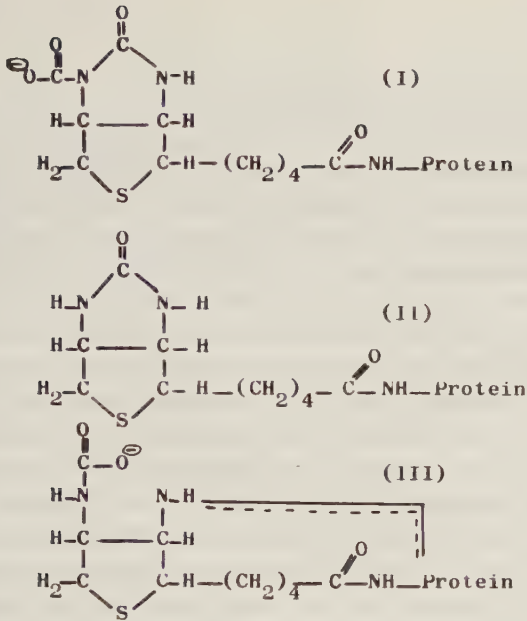


Abb. 53: Aktive Formen der Biotinenzyme (61)

Wie aus den Modellen hervorgeht, läuft die biochemische Reaktion, durch die das Vitamin seine Aufgabe erfüllt, am Imidazolidinring ab. Es läßt sich deshalb vermuten, daß Umbauten dieses Ringsystems die biologische Wirksamkeit stark vermindern oder aufheben, wenn der Organismus nicht zur Resynthese fähig ist. Der Seitenkette kommt als Verknüpfungsort zwischen Apoenzym und Coenzym besondere Bedeutung zu.

B. Spezieller Teil

I. Änderungen der sterischen Konfiguration

Wenn in der vorangegangenen Einführung schlechthin von Biotin gesprochen wurde, so war das rechtsdrehende D-Biotin gemeint. Auf Grund der drei optisch aktiven C-Atome seines Moleküls existieren 4 Stereoisomere bzw. 8 optisch aktive Formen (22). Allobiotin ist das Stereoisomere, welches sich von Biotin durch trans-Konfiguration der Aminogruppen unterscheidet; Epibiotin und Epiallobiotin sind die Epimeren des Biotins bzw. Allobiotins am C-Atom 2 (33). HARRIS u. M. (24) und BAKER u. M. (6, 7) synthetisierten die racemischen Stereoisomeren. In biologischen Testen mit Ratten (19), Kücken (54), Laktobazillen (25, 63) und *S. cerevisiae* (6) erwiesen sich L-Biotin, D,L-Allobiotin, D,L-Epibiotin und D,L-Epiallobiotin als inaktiv. Bei Verwendung hoher Dosen von L-Biotin und D,L-Allobiotin konnten STOKES u. M. (63) bei *Lb. arabinosus* und *Lb. casei* eine geringe Wachstumswirkung beobachten, die sie aber nicht den Testverbindungen selbst zuschrieben, sondern auf deren Verunreinigung mit aktivem Biotin zurückführten. Wie aus dem Befund, daß L-Biotin keine Vitaminwirksamkeit besitzt, zu erwarten war, zeigte sich D,L-Biotin bei Ratten (19) und Kücken (54) ebenso wie bei Mikroorganismen (7, 63) halb so aktiv wie Biotin, ein Wirkungsgrad, der seinem Gehalt an der rechtsdrehenden Komponente entspricht. Das Biotinmolekül zeichnet sich also durch strenge Stereospezifität aus, da jede Anwandlung der Raumanordnung die Vitaminwirksamkeit aufhebt. Die gleiche Stereospezifität kehrt bei Oxybiotin und anderen Biotinanalogen wieder (57, 74).

II. Änderungen des Tetrahydrothiophanringes

Der größte Teil Biotin-verwandter Verbindungen entstand durch Modifikationen des Tetrahydrothiophanringes.

1. Desthiobiotin

Optisch aktives Desthiobiotin wurde zuerst von DU VIGNEAUD u. M. (70) als Abbauprodukt des natürlichen Biotins erhalten. Im mikrobiologischen Test mit *S. cerevisiae* erwies sich dieses schwefelfreie Biotinanalogue als ebenso wachstumsstimulierend wie das Vitamin selbst (47) (Abb. 54); dagegen verhielt es sich gegenüber *Lb. casei* wie ein Antivitamin, indem es die Reaktion dieses Organismus auf Biotin kompetitiv inhibierte (13).

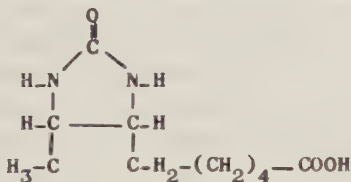


Abb. 54: Desthiobiotin

LILLY u. M. (40) untersuchten die biologische Aktivität des Desthiobiotins bei 45 Biotin-bedürftigen Mikroorganismen und fanden, daß es bei 25 Stämmen von *S. cerevisiae*, ebenso wie bei den Pilzen *Neurospora crassa*, *N. sitophila* u.a. das Biotin in der Ernährung zu ersetzen vermochte, daß es dagegen bei *Lb. casei*, *Lb. arabinosus*, *Rhizobium trifolii* u.a. ohne Vitaminwirksamkeit blieb. Ein Teil dieser Befunde wurde von STOKES u. M. (63) bestätigt. FIRESTONE u. M. (20) berichteten, daß *C. albicans* auf kleine Dosen Desthiobiotin wie auf Biotin reagierte; größere Mengen des Analogens hemmten hingegen das Wachstum. Außerdem konnten einige Species von Clostridia das Desthiobiotin als Biotinquelle nutzen (56). EMERSON (19) beobachtete bei der Verabreichung von Desthiobiotin an Biotin-defiziente Ratten geringgradige Wirksamkeit, die er aber, da sie nicht regelmäßig auftrat, auf Biotinverunreinigungen im Desthiobiotin-Präparat zurückführte. Wenig später prüften RUBIN u. M. (59) die Aktivität bio-

tinfreien, synthetischen D,L-Desthiobiotins. Die racemische Form besaß nur 0.1 - 0.01 % der Biotinaktivität für die Biotin-verarmte Ratte, für *S. cerevisiae* aber entsprechend ihrem Gehalt an der D-Komponente die halbe Vitamin- bzw. Desthiobiotin-Wirksamkeit.

Wie von verschiedenen Autoren gefunden wurde (13, 39, 50, 63, 65), ist die bei bestimmten Lebewesen auftretende Vitaminwirksamkeit des Desthiobiotins nicht als Eigenschaft seines Moleküls anzusehen; vielmehr beruht sie auf der Resynthese des Schwefelringes in vivo. Dieser Befund lieferte die Erklärung für die uneinheitliche Aktivität des Desthiobiotins, indem es das Vitamin nur in solchen Organismen ersetzen kann, die die Fähigkeit zum Umbau des Analogens in Biotin besitzen. TATUM (64, 65) hielt das Desthiobiotin sogar für ein normales Zwischenprodukt in der Biotin-Biosynthese bestimmter *Penicillium*-Pilze.

Unter den Desthiobiotin-Analogen erwies sich nur die Imidazolidinvaleriansäure (Abb. 55), die sich vom Desthiobiotin durch Fehlen der am Imidazolidinring angehängten Methylgruppen unterscheidet, als schwacher Wachstumsstoff für *S. cerevisiae* (14), während die übrigen Desthiobiotin-verwandten Verbindungen als Wachstumsinhibitoren bestimmter Mikroorganismen identifiziert wurden (73).

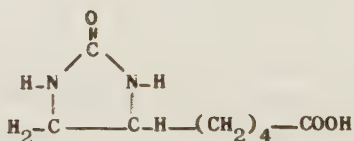


Abb. 55: Imidazolidin-Valeriansäure

Im Zusammenhang mit Desthiobiotin sei noch das von AUHAGEN (1) 1946 beschriebene Provitamin erwähnt, das er in *B. coli*-Kulturen fand und das ihn in seiner ausgezeichneten Wirksamkeit auf Hefe und Unwirksamkeit bei *Str. plantaris* und der Ratte an dieses Analoge erinnerte. Der fragliche Wuchsstoff wurde von Hefe in Biotin umgewandelt.

2. Oxybiotin

Fast gleichzeitig berichteten HOFMANN (26) und DUSCHINSKY u. M. (17, 18) über die Synthese eines optisch inaktiven Sauerstoffanalogens des Biotins, in dem das Schwefelatom des Tetrahydrothiophanrings durch ein Sauerstoffatom ersetzt wurde (Abb. 56).

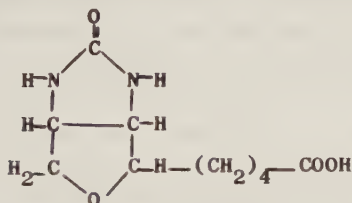


Abb. 56: Oxybiotin

Diese Biotinverwandte Verbindung ging unter den Bezeichnungen D,L-Oxybiotin (26) und D,L-O-Meterobiotin (18) in die Literatur ein. D,L-Oxybiotin gewann insofern besondere Bedeutung unter den Biotinanalogen, als es bei sehr verschiedenen Organismen Vitaminaktivität entfaltete. Allerdings decken sich die Angaben über seine relative Wirksamkeit zu der von D-Biotin nicht immer. Die Wachstumswirkung des racemischen Oxybiotins auf *Lb. arabinosus* und *Lb. pentosus* 124 - 2 wurde von mehreren Autoren (17, 18, 38, 57, 60) mit 50 % derjenigen des D-Biotins bestimmt. POTTER u. M. (58) gaben dagegen an, daß die Aktivität des Sauerstoffanalogens auf *Lb. arabinosus* 17 - 5 vom pH-Wert des Kulturmediums ab-

hängt, da es bei einem pH von 6.5 noch kaum wirksam war, bei einem pH von 7.0 und mehr jedoch 30 % der Vitaminwirksamkeit entwickelte. In gleicher Weise ist die Wirksamkeit des Oxybiotins für *Str. faecalis* R pH-abhängig. Sie betrug bei pH 7.3 7.5 % der Vitaminaktivität, während sie bei pH 6.6 praktisch zu vernachlässigen war (42). Es wird allgemein angenommen, daß wie im D,L-Biotin auch im D,L-Oxybiotin nur die D-Form biologisch aktiv ist, so daß die Werte für den Wirkungsgrad dieses rechtsdrehenden Anteils verdoppelt werden müssen (5). Auf dieser Basis gilt Oxybiotin für *Lb. arabinosus* und *Lb. pentosus* als ebenso aktiver Wuchsstoff wie Biotin (74). Für den Wirkungsgrad des D,L-Oxybiotins auf *Lb. casei* wurden Werte von ca. 25 % (17, 18, 60) und 40 % (57) errechnet. Es sei besonders erwähnt, daß Oxybiotin unter allen Biotinanalogen das einzige mit nennenswerter biologischer Aktivität für dieses Milchsäurebakterium ist (18). D,L-Oxybiotin unterhält auch das Wachstum von *S. cerevisiae*; seine Wirksamkeit für diesen Mikroorganismus wurde zu meist mit 25 % der des Biotins angegeben (17, 18, 60). PILGRIM u. M. (57) stellten fest, daß D,L-Oxybiotin nur bei Beurteilung des halb-maximalen Wachstums 25 % der Biotinwirksamkeit aufwies, bei maximalem Wachstum dagegen nur 8 %. Für *Candida albicans* zeigte sich das Sauerstoffanaloge $1/5$ so aktiv wie Biotin (20, 41), für *Rhizobium trifolii* ca. $1/7$ (74). Unter den Biotinanalogen war D,L-Oxybiotin die erste Verbindung, die auch bei höheren Tieren eine mit Biotin vergleichbare Aktivität besaß (30, 51a). Sowohl bei Ratten als auch bei Kücken verhütete die Zugabe von Oxybiotin zu einer Biotin-defizienten Kost das Auftreten von Mangelsymptomen (30, 51a), und auch bereits erkrankte Tiere konnten durch intramuskulär verabreichtes Oxybiotin innerhalb von 4 Wochen geheilt werden (5, 44). Trotz seiner hohen therapeutischen Wirksamkeit zeigte das Sauerstoffanaloge im Wachstumstest mit Ratten und Kücken nur 4 bzw. 17 % der Biotinaktivität (5, 44).

Nachdem auf Grund einer Arbeit von RUBIN u. M. (60) zunächst angenommen wurde, Oxybiotin verdanke seine Aktivität einer Um-

wandlung in Biotin, ging etwas später aus den Versuchen von HOFMANN u. M. (2, 32) hervor, daß *S. cerevisiae* und *Rhizobium trifolii* das Sauerstoffanaloge als solches assimilieren und nicht in Biotin umwandeln. KRUEGER u. M. (38) konnten diesen Befund für *Lb. pentosus* 124-2 bestätigen. Auch an Kücken, die bei Biotin-deficientem, mit Trockeneiweiß angereicherten Futter gehalten wurden, ließ sich nach intramuskulärer Injektion von Oxybiotin nur eine hohe Oxybiotin-Konzentration in den untersuchten Geweben nachweisen, während ihr Gesamtbiotin-Gehalt im wesentlichen dem Biotin-defizienter Kontrolltiere entsprach. Ebenso unterschied sich die ausgeschiedene Biotinmenge von Tieren, denen Oxybiotin injiziert wurde, nicht von der, die bei derselben Biotin-freien Kost gehaltene Kontrolltiere ausschieden (45). Diese Erscheinung, daß ein in der Natur nicht vorkommendes Analoges an Stelle der natürlichen Verbindung in der Zelle verwendet wird, gilt als einzigartig (38).

3. Biotinsulfon

1941 erhielten HOFMANN u. M. (31) und KÖGL u. M. (37) durch vollständige Oxydation des D-Biotins am Schwefelatom das Analoges Biotinsulfon (Abb. 57). Während es sich bei verschiedenen Mikroorganismen wie *Lb. casei*, *Lb. arabinosus*, *S. aureus* (14), *N. crassa* und *E. coli* 58 (65) als sehr wirksames Antibiotin erwies, konnte es bei Anwesenheit von Aminobernsteinsäure (aspartic acid) im Kulturmedium das Wachstum von *S. cerevisiae* mit 0.1 % der Biotinaktivität stimulieren (15). Ungefähr den gleichen Wirkungsgrad zeigte das Analoges in der Behandlung Biotin-verarmter Ratten (15). LITTMAN u. M. (41) gaben keinen Zahlenwert für die Wirksamkeit des Biotinsulfons bei *C. albicans* an, teilten jedoch mit, daß eine derartige Abwandlung der Biotinstruktur die Wachstumswirkung für diesen Mikroorganismus reduzierte.

In dem Befund, daß das Biotinsulfon nicht wie Biotin auch in Abwesenheit von Aminobernsteinsäure das Hefewachstum fördert,

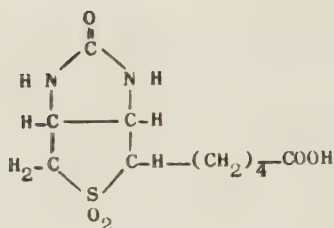


Abb. 57: Biotinsulfon

fanden DITTMER u. M. (15) einen Hinweis darauf, daß die Vitaminwirksamkeit des Sulfons nicht auf seine Umwandlung in Biotin zurückzuführen ist. Der Beweis dafür steht jedoch noch aus.

4. Biotinsulfoxid

Biotinsulfoxid (Abb. 58) ist ein am Schwefelatom bis zur ersten Stufe oxydiertes Analoges des Biotins mit folgender Formel. Als NIELSEN u. M. (52) 1942 Biotin-Konzentrate mit Wasserstoffperoxyd behandelten, stellten sie fest, daß die biologische Aktivität dieses Präparates für die Ratte und *Lb. casei* zerstört wurde, während sie für *S. cerevisiae* größtenteils erhalten blieb.

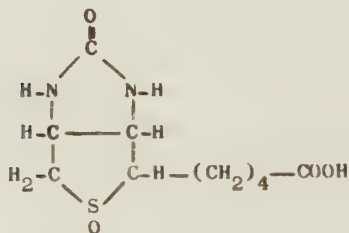


Abb. 58: Biotinsulfoxid

Dementsprechend beobachteten PAVCEK u. M. (55), daß ranzige Öle und Fette mit hohem Gehalt an Wasserstoffperoxyd die Biotinaktivität veränderten, und sie versuchten ihre Ergebnisse mit der Bildung eines Sulfoxids zu erklären. Auch AXELROD u. M. (4) machten die Bildung von Sulfoxid- und Sulfonverbindungen in einem mit Salzsäure autoklavierten Biotinpräparat dafür verantwortlich, daß seine Wirksamkeit gegenüber *Lb. casei* und *Str. faecalis* völlig verschwand und sich gegenüber *Lb. arabinosus* und *S. cerevisiae* um die Hälfte verringerte.

1954 konnte MELVILLE (46) mit Wasserstoffperoxyd zwei isomere Sulfoxide des Biotins, die sich in der räumlichen Anordnung des Sauerstoffatoms am asymmetrischen Schwefelatom unterschieden, in relativ reiner Form darstellen. Auf Grund ihrer optischen Drehungen wurden sie als D-Biotin-D-Sulfoxid und D-Biotin-L-Sulfoxid bestimmt. Es gelang ihm außerdem, die rechtsdrehende Form aus Milch zu isolieren. Im gleichen Jahr entdeckten WRIGHT u. M. (77, 80) das linksdrehende Isomere, den sog. AN-Faktor, in Kulturfiltraten von *Aspergillus niger*.

Nach der Darstellung relativ reiner Sulfoxide konnten MELVILLE u. M. (48) genaue Angaben über deren biologische Wirksamkeit machen; die Ergebnisse ihrer Experimente stehen in Einklang mit den Resultaten der oben erwähnten Autoren. Im Wachstumstest mit *S. cerevisiae* und *Lb. arabinosus* bewies das D-Sulfoxid volle Biotinaktivität. Im Test mit *Lb. casei* war es ohne Wirkung. Dagegen konnte das L-Sulfoxid bei *S. cerevisiae* kaum als Wachstoffsstoff fungieren; bei *Lb. arabinosus* und *Lb. casei* entfaltete es aber 5 % der Biotinwirksamkeit, bei *N. crassa* wirkte es ebenso gut wie Biotin (78). Beide Isomeren waren nicht imstande, die Mangelsymptome Biotin-verarmerter Ratten zu beseitigen (48).

MELVILLE u. M. (48) konnten mit Hilfe chromatographischer Analyse feststellen, daß die Sulfoxide bei ihrer Verwertung im Mikroorganismus teilweise zu Biotin reduziert werden. Dieselben Autoren vermuteten auf Grund der stark unterschiedlichen Wirkung der D- und L-Isomeren, daß die Nutzbarmachung der D-Form in

S. cerevisiae oder *Lb. arabinosus* von der Anwesenheit einer stereochemisch hochspezifischen "D-Sulfoxid-Reduktase" abhängt, einem Enzymsystem, das *Lb. casei* konsequenterweise fehlen müßte. Die Nutzbarmachung der L-Form bei *Lb. arabinosus*, *Lb. casei* und *N. crassa* könnte durch ein entsprechendes Enzymsystem vor sich gehen (48).

5. Tetradehydrobiotin

Das von CHENEY u. M. (12) synthetisierte Tetradehydrobiotin (Abb. 59) zeigte im Wachstumstest mit *Lb. casei* und *S. cerevisiae* keine Vitaminwirksamkeit (9, 12).

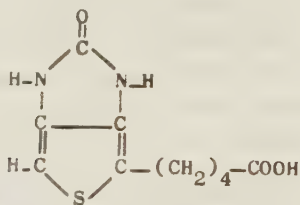


Abb. 59: Tetradehydrobiotin

III. Änderungen des 2'-Oxo-imidazolidinringes

Beim Erhitzen von Biotin mit Alkalilauge spaltet sich der 2'-Oxo-imidazolidinring unter Verlust der Carbonylgruppe (31). Die dabei entstehende 3,4-Diamino-2-tetrahydrothiophen-valeriansäure zeigte im Wachstumstest mit *S. cerevisiae* noch 10 % der Biotinwirksamkeit (69); dagegen war sie praktisch inaktiv bei *Lb. casei* (14) und der Biotin-verarmten Ratten (19). Die synthetisch als DL-Diamino-säuresulfat gewonnene Verbindung soll nach STOKES u. M. (63) für die Laktobazillen *casei* und *arabinosus* 3,6 bzw. 7,2 % der Biotinaktivität besitzen. Im kurativen Test mit Biotin-verarmten Ratten zeigte es keine therapeutische Wirkung (19) (Abb. 60, I).

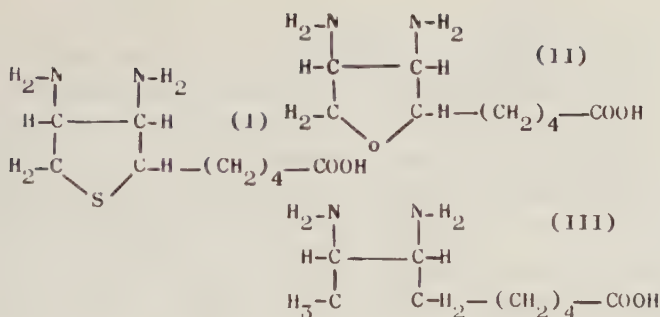


Abb. 60: Hydrolyse des 2'-Oxo-imidazolidinringes

Neben dem Hydrolyse-Produkt des Biotins wurden auch die des Oxybiotins und Desthiobiotins bekannt. Während die Hydrolyse des Imidazolidinringes im Oxybiotin unter Entstehung von 3,4-Diamino-2-tetrahydrofuran-valeriansäure (Abb. 60, II) die fast völlige Inaktivierung des Moleküls für *S. cerevisiae* zur Folge hatte (74), behielt die D-Diaminopelargonsäure (70) (Abb. 60, III) als entsprechendes Derivat des Desthiobiotins für *S. cerevisiae* 1/10 der Biotinaktivität und blieb erwartungsgemäß für *Lb. casei* unwirksam (14).

Auf Grund der Aktivität der von Biotin abgeleiteten Diaminocarbonsäure vermuteten BURK u. M. (11) schon 1943, daß Biotin als Coenzym bei der Nutzbarmachung von Kohlendioxyd eine Rolle spielt. Die biologische Aktivität dieser Biotinderivate beruht wahrscheinlich auf der Resynthese des 2'-Oxo-imidazolidinringes in vivo (33 b). Da der 2'-Oxo-imidazolidinring für die eigentliche biologische Aufgabe des Biotinmoleküls verantwortlich ist, müssen Modifikationen in diesem Bereich des Biotinmoleküls konsequenterweise einen ungünstigen Einfluß auf seine Wirksamkeit nehmen. Dementsprechend erwiesen sich die Guanido-Analogen des Biotins bzw. Oxybiotins (27) (Abb. 61) in Wachstumstesten mit *S. cerevisiae*, *Lb. casei* und *Lb. arabinosus* als inaktiv. Das

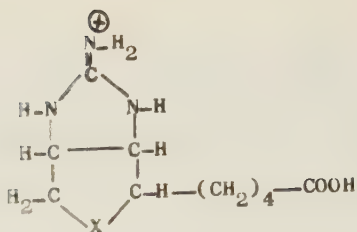


Abb. 61: Guanido-Analogenes X = O oder S

Thioharnstoff-Analogen^{+) des Desthiobiotins (Abb. 62) behielt für *S.cerevisiae* nur 0.06 % der Wirksamkeit des Desthiobiotins (10).}

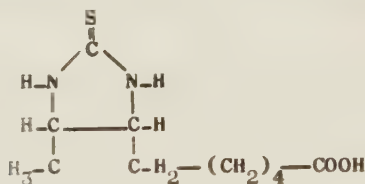


Abb. 62: Thioharnstoff-Analogenes des Desthiobiotins

IV. Änderungen der Seitenkette und Komplex-Verbindungen

Auf die Bedeutung der Valeriansäure-Seitenkette als Bindeglied zwischen Enzym und Coenzym wurde bereits hingewiesen. Änderungen der endständigen Carboxygruppe haben solange keinen Einfluß auf die Wirksamkeit des Biotinmoleküls wie sie in vivo rückgängig gemacht werden können. D-Biotinol, das Alkohol-Analogue des D-Biotins, war als Wuchsstoff für *Lb.arabinosus*, *Lb.casei* und *S.cerevisiae* unwirksam (16) und für *C.albicans* nur sehr gering wirksam (20, 41). Dagegen zeigte es sich in der Therapie

^{+) In der Literatur findet sich für den 2'-Oxo-imidazolidin-ring auch die Bezeichnung "Harnstoffring".}

von Biotinmangel bei Ratten dem Biotin ebenbürtig (16). Beim Vergleich der Biotinausscheidung im Harn von Ratte und Mensch nach oraler oder intramuskulärer Applikation von Biotin oder Biotinol konnte festgestellt werden, daß der Alkohol im Organismus zu Biotin reoxydiert wurde (16). D,L-Oxybiotinol, das entsprechende Alkohol-Derivat des D,L-Oxybiotins, besaß für *S. cerevisiae* und *Lb. arabinosus* nur noch 1/300 der Oxybiotinwirksamkeit (74).

AXELROD u. M. (28, 29) synthetisierten zwei Sulfonsäure-Derivate, Oxybiotin- und Homooxybiotin-Sulfonsäure (Abb. 63), deren Carboxygruppe durch eine Sulfonsäuregruppe ersetzt wurde. Während die D,L-Oxybiotin-Sulfonsäure die Eigenschaften eines Antibiotins bzw. Antioxybiotins entwickelte (28), zeigte sich die entsprechende Homooxybiotin-Verbindung für *S. cerevisiae* und *Lb. arabinosus* als schwacher Wachstumsstimulator (29).

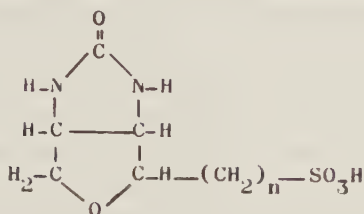


Abb. 63: $n = 4$ = Oxybiotin-Sulfonsäure
 $n = 5$ = Homooxybiotin-Sulfonsäure

Ebenso besaßen der Benzylthioäther des Homooxybiotins und sein Mercaptopentanol-Derivat (Abb. 64) geringe Vitaminaktivität für *Lb. arabinosus*, bei *S. cerevisiae* verhielten sie sich dagegen wie Inhibitoren (29). Eine Erklärung dieser überraschenden Befunde wurde nicht gegeben.

Durch Veresterung der endständigen Carboxygruppe mit Methanol entstand D,L-Biotinmethylester, der bei *S. cerevisiae* volle Vitaminwirksamkeit entfaltete (74), sich gegenüber *Lb. casei* aber

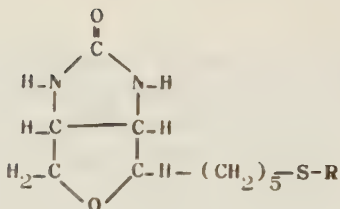


Abb. 64: $R = CH_2-C_6H_5 =$ Benzylthioäther-Derivat

$R = H =$ Mercaptopentanol-Derivat

als inaktiv erwies (62). Ebenso verhielt sich der D-Biotin-D-sulfoxidmethylester (68). Der D,L-Oxybiotinmethylester behielt als Wuchsstoff gegenüber *S.cerevisiae* 65 % der Wirksamkeit des Oxybiotins (74).

1951 isolierten WRIGHT u. M. (79) aus Hefeautolysaten ein Biotin-Derivat, das sie als N-Biotinyl-L-lysin identifizierten und Biocytin nannten (Abb. 65).

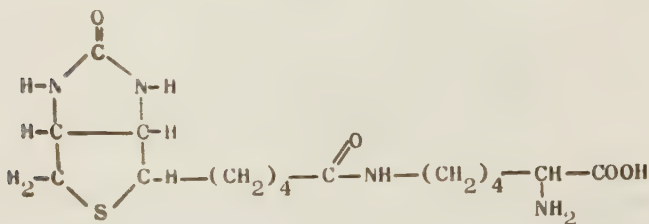


Abb. 65: Biocytin

1952 wurde es von WOLF u. M. (75) synthetisch dargestellt. Biocytin war für die meisten Biotin-bedürftigen Mikroorganismen, darunter *Lb.casei*, *Lb.acidophilus*, *N.crassa* und *S.carlsbergensis*, als Biotinquelle verfügbar, während es auf *Lb.arabinosus* und *Lb.pentosus* keine Wirkung ausübte (23, 81). Ex-

perimente von WRIGHT u. M. (82) zeigten, daß die Fähigkeit eines Mikroorganismus zur Nutzbarmachung von Biocytin an die Anwesenheit eines Enzyms gebunden ist, das aus der Komplex-Verbindung Biotin freisetzt. Bei Verabreichung synthetischen Biocytins an Menschen wurde festgestellt, daß in ihren Blut- und Harnproben der Biotinspiegel anstieg. Dieser Befund berechtigte zu der Vermutung, daß Biocytin auch im menschlichen Körper in Biotin und Lysin gespalten wird (81). Der Nachweis einer Biocytinase im menschlichen Blut gelang WRIGHT u. M. (77) wenig später.

1947 berichteten GOLDBERG u. M. (21), daß die Homologen des Biotins, D,L-Homobiotin und D,L-Norbiotin, deren Seitenkette gegenüber der des Biotins um eine CH_2 Gruppe länger bzw. kürzer ist, als Wachstumsinhibitoren bei *S.cerevisiae*, *Lb.casei* und *Lb. arabinosus* fungieren. Dagegen fanden BELCHER u. M. (8), daß diese beiden Homologen nur bei bestimmten Stämmen von *S.cerevisiae* als Antagonisten auftraten und bei anderen -allerdings in hoher Konzentration- durchaus als Wuchsstoff zu wirken vermochten. Bei *C.albicans* zeigte Norbiotin geringe, Homobiotin praktisch keine Biotinwirksamkeit (20, 41). Noroxybiotin und Homooxybiotin besaßen bei *S.cerevisiae* keine Vitaminwirksamkeit mehr (3). Als Abkömmling des Oxybiotins wurde eine Verbindung synthetisiert, in der die gesamte Valeriansäure-Seitenkette durch eine Methylgruppe ersetzt wurde (74). WINNICK u. M. (74) ermittelten für die biologische Aktivität dieses Derivates gegenüber *S.cerevisiae* einen Wert von 1/Millionstel der des Biotins. Nach WILLIAMS u. M. (73) ist die Wirksamkeit mit einer in-vivo-Oxydation dieses Analogen zu Biotin zu erklären.

V. Die Avidin-Bindungsfähigkeit der Biotin-Analogen

Abschließend sei noch erwähnt, daß die Avidin-Bindungsfähigkeit des Biotins auch der Mehrzahl seiner Analogen zukommt. Aus der Beobachtung, daß die Diaminosäure-Derivate des Biotins, seines Oxy- und Desthio-Analogen sich nicht mit Avidin verbanden (14, 69, 74), wurde die Vermutung abgeleitet, daß die Avidin-Bindungs-

Fähigkeit des Biotins als eine Funktion des Imidazolidinringes anzusehen ist.

C. Zusammenfassung

Tab. 5: Übersicht über die in Teil B abgehandelten Biotin-
verwandten Verbindungen und ihre biologische Aktivität

Biotin-verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität/Mol im Vergleich zu Biotin		
	Ratte	S.cerevisiae	Lb.casei
D-Desthiobiotin	geringgra- dige Wirk- samkeit	100 %	Antivita- min
DL-Oxybiotin	mit Biotin vergleich- bare Aktivi- tät	25 %	ca.25-40 %
D-Biotinsulfon	ca. 0.1 %	0.1 % (in Anwesen- heit von Aminobern- steinsäure)	Antivita- min
D-Biotin-D-sulfoxid	-	100 %	-
D-Biotin-L-sulfoxid	-	-	5 %
3,4-Diamino-2-tetra- hydrothiophen- valeriansäure	-	10 %	-
Guanido-Analoges des Biotins		-	-
Thioharnstoff-Analoges von Desthiobiotin		0.06 %	
D-Biotinol	100 %	-	-

Fortsetzung Tab. 5

Biotin-verwandte Verbindungen	relative biologische Aktivität/Mol im Vergleich zu Biotin		
	Ratte	<i>S.cerevisiae</i>	<i>Lb.casei</i>
DL-Biotinmethylester		100 %	-
Biocytin	Biotin-wirk- sam		Biotin- wirksam
DL-Homobiotin DL-Norbiotin		Antivitamin (bei be- stimmten Stämmen in hoher Kon- zentration als Wuchs- stoff wirk- sam)	Antivi- tamin
L- Biotin DL-Allobiotin DL-Epibiotin DL-Epiallobiotin	-	-	-

D. Literaturnachweis:

Biotin-wirksame Substanzen

1. AUHAGEN, E.: Naturwiss. 33, 221 (1946)
2. AXELROD, A.E., B.C. FLINN, K. HOFMANN: J. biol. Chem. 169, 195 (1947)
3. AXELROD, A.E., K. HOFMANN: J. biol. Chem. 180, 525 (1949)
4. AXELROD, A.E., K. HOFMANN: J. biol. Chem. 187, 23 (1950)
5. AXELROD, A.E., F.J. PILGRIM, K. HOFMANN: J. biol. Chem. 163, 191 (1946)
6. BAKER, B.R., W.L. MC EVEN, N.W. KINLEY: J. org. Chem. 12, 322 (1947)
7. BAKER, B.R., M.V. QUERRY, W.L. MC EVEN, S. BERNSTEIN, S.R. SAFIR, L. DORFMAN, Y. SUBBAROW: J. org. Chem. 12, 186 (1947)
8. BELCHER, M.R., H.C. LICHSTEIN: J. Bact. 58, 579 (1949)
9. BOURQUIN, J.P.: Int. Z. Vitaminf. 18, 105 (1946)
10. BROWN, G.B., V. DU VIGNEAUD: J. biol. Chem. 163, 761 (1946)
11. BURK, D., R.J. WINZLER: Science 97, 57 (1943)
12. CHENEY, L.C., J.R. PIENING: J. amer. chem. Soc. 67, 731, 2252 (1945)
13. DITTMER, K., D.B. MELVILLE, V. DU VIGNEAUD: Science 99, 203 (1944)
14. DITTMER, K., V. DU VIGNEAUD: Science 100, 129 (1944)
15. DITTMER, K., V. DU VIGNEAUD, P. GYÖRGY, C.S. ROSE: Arch. Biochem. 4, 229 (1944)
16. DREKTER, L., J. SCHEINER, E. DE RITTER, S.H. RUBIN: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 78, 381 (1951)
17. DUSCHINSKY, R., L.A. DOLAN: Festschrift E. Barell, Basel 1946, 164
18. DUSCHINSKY, R., L.A. DOLAN, D. FLOWER, S.H. RUBIN: Arch. Biochem. 6, 480 (1945)
19. EMERSON, G.A.: J. biol. Chem. 157, 127 (1945)
20. FIRESTONE, B.Y., S.A. KOSER: J. Bact. 79, 674 (1960)
21. GOLDBERG, M.W., L.H. STERNBACH, S. KAISER, S.D. HEINEMAN, J. SCHEINER, S.H. RUBIN: Arch. Biochem. 14, 480 (1947)
22. GYÖRGY, P. in W.H. SEBRELL, JR. u. R.S. HARRIS: The Vitamins, Bd. I, S. 546 Academic Press Inc. Publ. New York, 1954
23. GYÖRGY, P.: in SEBRELL, HARRIS: The Vitamins, Bd. I., S. 553

24. HARRIS, A.S., R. MOZINGO, D.E. WOLF, A.N. WILSON, G.E. ARTH, F. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 66, 1800 (1944)
25. HARRIS, S.A., D.E. WOLF, R. MOZINGO, G.E. ARTH, R.C. ANDERSON, N.R. EASTON, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 67, 2096 (1945)
26. HOFMAN, K.: J. amer. chem. Soc. 67, 694, 1459 (1945)
27. HOFMANN, K., A.E. AXELROD: J. biol. Chem. 187, 29 (1950)
28. HOFMANN, K., A. BRIDGWATER, A.E. AXELROD: J. amer. chem. Soc. 69, 1550 (1947)
29. HOFMANN, K., A. BRIDGWATER, A.E. AXELROD: ibid. 71, 1253 (1949)
30. HOFMANN, K., R.H. MC COY, J.R. FELTON, A.E. AXELROD, F.J. PILGRIM: Arch. Biochem. 7, 393 (1945)
31. HOFMANN, K., D.B. MELVILLE, V. DU VIGNEAUD: J. biol. Chem. 141, 207 (1941)
32. HOFMANN, K., T. WINNICK: J. biol. Chem. 160, 449 (1945)
33. HORAK, V.: in J. FRAGNER: Die Vitamine, Bd. a) S. 560, b) S. 575; G. Fischer-Verlag, Jena 1964
34. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1961, S. 306
35. KNAPPE, J., K. BIEDERBICK, W. BRÜMMER: Angew. Chem. 74, 432 (1962)
36. KNAPPE, J., E. RINGELMANN, F. LYNNEN: Biochem. Z. 335, 168 (1961)
37. KÖGL, F., J. DE MAN: Z. physiol. Chem. 269, 81 (1941)
38. KRUEGER, K.K., W.H. PETERSON: J. Bact. 55, 693 (1948)
39. LEONIAN, L.H., V.G. LILLY: J. Bact. 49, 291 (1945)
40. LILLY, V.G., L.H. LEONIAN: Science 99, 205 (1944)
41. LITTMAN, M.L., T. MIWANTANI: Mycopathologia 21, 81 (1963)
42. LUCKEY, T.D., P.R. MOORE, C.A. ELVEHJEM: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 61, 97 (1946)
43. LYNNEN, F.L., J. KNAPPE, E. LORCH, G. JÜTTING, E. RINGELMANN: Angew. Chem. 7, 481 (1959)
44. MC COY, R.H., J.R. FELTON, K. HOFMANN: Arch. Biochem. 9, 141 (1946)
45. MC COY, R.H., J.N. MC KIBBEN, A.E. AXELROD, K. HOFMANN: J. biol. Chem. 176, 1319 (1948)
46. MELVILLE, D.B.: J. biol. Chem. 208, 495 (1954)
47. MELVILLE, D.B., K. DITTMER, G.B. BROWN, V. DU VIGNEAUD: Science 98, 497 (1943)
48. MELVILLE, D.B., D.S. GENGHOF, J.M. LEE: J. biol. Chem. 208, 503 (1954)

49. MELVILLE, D.B., A.W. MOYER, K. HOFMANN, V. DU VIGNEAUD: J. biol. Chem. 146, 487 (1942)
50. MIMURA, T., T. SUZUKI, Y. SAHASHI: J. Vitaminol. 10, 218, 224 (1964)
51. MISTRY, S.P., K. DAKSHINAMURTI: Vitamins Hormones 22, 1 (1964)
- 51a. MOORE, P.R., T.D. LUCKEY, C.A. ELVEHJEM, E.B. HART: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 61, 185 (1946)
52. NIELSEN, E., G.M. SHULL, W.H. PETERSON: J. Nutr. 24, 523 (1942)
53. NEUJAHN, H.Y., S.P. MISTRY: Helv. chim. Acta 46, 2810 (1963)
54. OTT, W.H.: J. biol. Chem. 157, 127 (1945)
55. PAVCEK, P.L., G.M. SHULL: J. biol. Chem. 146, 351 (1942)
56. PERLMAN, D.: Arch. Biochem. 16, 79 (1948)
57. PILGRIM, F.J., A.E. AXELROD, T. WINNICK, K. HOFMANN: Science 102, 35 (1945)
58. POTTER, R.L., C.A. ELVEHJEM: J. biol. Chem. 183, 587 (1950)
59. RUBIN, S.H., L. DREKTER, E.H. MOYER: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 58, 352 (1945)
60. RUBIN, S.H., D. FLOWER, F. ROSEN, L. DREKTER: Arch. Biochem. 8, 79 (1945)
61. SCHAEFFER, H.J., P.S. BHARGAVA: Biochem. biophys. Res. Commun. 14, 468 (1964)
62. SHULL, G.M., B.L. HUTCHINGS, W.H. PETERSON: J. biol. Chem. 142, 913 (1942)
63. STOKES, J.L., M. GUNNES: J. biol. Chem. 157, 121 (1945)
64. TATUM, E.: Ann. Rev. Biochem. 13, 667 (1944)
65. TATUM, E.: J. biol. Chem. 160, 455 (1945)
66. TRAUB, W.: Nature 178, 649 (1956)
67. UTTER, N.F., D.B. KEECH: J. biol. Chem. 235, PC 17 (1960), 238, 2603, 2609 (1963)
68. VIGNEAUD, V. DU: Chem. Eng. News 23, 620 (1945); zit. nach R.J. WILLIAMS, R.E. EAKIN, E. BEERSTECHER, JR., W. SHIVE: The Biochemistry of B Vitamins. New York 1950, Reinhold Publ. Corp., S. 550
69. VIGNEAUD, V. DU, K. DITTMER, K. HOFMANN, D.B. MELVILLE: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 50, 374 (1942)
70. VIGNEAUD, V. DU, D.B. MELVILLE, K. FOLKERS, D.E. WOLF, R. MOZINGO, J.C. KERESZTESY, S.A. HARRIS: J. biol. Chem. 146, 475 (1942)

71. WAITE, M., S.J. WAKIL: J. biol. Chem. 238, 81 (1963)
72. WAKIL, S.J., E.B. TITCHENER, D.M. GIBSON: Biochem. biophys. Acta 29, 225 (1958)
73. WILLIAMS, R.J., R.E. EAKIN, E. BEERSTECKER, JR., W. SHIVE: The Biochemistry of B-Vitamins. Reinhold Publ. Corp. New York, 1950, S. 553
74. WINNICK, T., K. HOFMANN, F.J. PILGRIM, A.E. AXELROD: J. biol. Chem. 161, 405 (1945)
75. WOLF, D.E., J. VALIANT, R.L. PECK, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 74, 2002 (1952)
76. WOOD, H.G., S.H.G. ALLEN, R. STJERNHOLM, B. JACOBSON: J. biol. Chem. 238, 547 (1963)
77. WRIGHT, L.D., E.L. CRESSON: J. amer. chem. Soc. 76, 4156 (1954)
78. WRIGHT, L.D., E.L. CRESSON, C.A. DRISCOLL: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 86, 480 (1954)
79. WRIGHT, L.D., E.L. CRESSON, H.R. SKEGGS, R.L. PECK, D.E. WOLF, T.R. WOOD, J. VALIANT, K. FOLKERS: Science 114, 635 (1951)
80. WRIGHT, L.D., E.L. CRESSON, J. VALIANT, D.E. WOLF, K. FOLKERS: J. amer. chem. Soc. 76, 4163 (1954)
81. WRIGHT, L.D., C.A. DRISCOLL, W.P. BOGER: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 86, 335 (1954)
82. WRIGHT, L.D., K.V. LIEBERT: unveröffentlicht; zit. nach WRIGHT u. M., siehe unter 81.

Vitamin-C-wirksame Substanzen

A. Allgemeiner Teil

Als HIRST u. M. (58) 1933 mit der Konstitutionsformel des Vitamins C die erste richtige Vorstellung vom Bau des antiskorbischen Faktors vermittelten, ermöglichten sie auch die Synthese analoger und isomerer Verbindungen zum Studium der für die Vitaminwirkung essentiellen Bausteine. Die Struktur des Vitamins C als das Lakton der Enol-2-Keto-L-Gulonsäure (10) (Abb. 66) legte Untersuchungen über die Bedeutung des Laktonrings, der diesem am C_4 -Atom angehängten Seitenkette, der Endiol-Gruppierung sowie der übrigen Hydroxyle und der Stereochemie des Moleküls nahe. Es erwies sich hier wie bei anderen Vitaminen, daß schon leichte Änderungen des Moleküls ausreichen, die Aktivität zu vermindern oder sogar zu zerstören (57, 107, 110), sofern der Organismus nicht in der Lage ist, die modifizierte Verbindung in das Vitamin umzuwandeln.

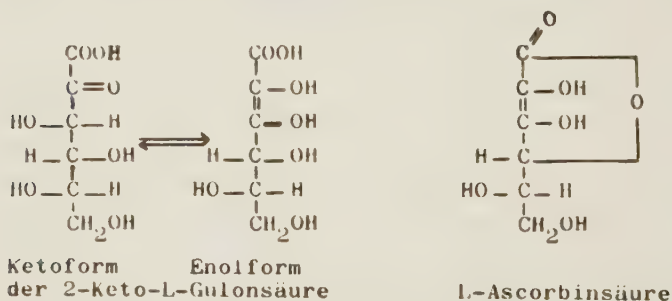


Abb. 66

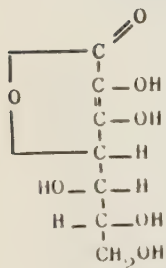
Unter den Laboratoriumstieren kann nur das Meerschweinchen zu biochemischen Tests auf antiskorbutische Wirksamkeit einer Substanz herangezogen werden, da die meisten der übrigen Arten zur Biosynthese von Ascorbinsäure befähigt sind (61, 69).

B. Spezieller Teil

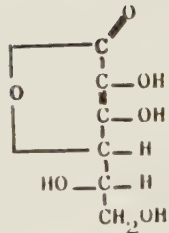
I. Änderungen der sterischen Konfiguration

Nach der Identifizierung des Vitamins C synthetisierten HIRST u. M. (2, 5) und REICHSTEIN u. M. (92) die D-Ascorbinsäure⁺, bei welcher sich der Laktonring, wenn die Verbindung mit Hilfe der Fischerschen Projektionsformel geschrieben wird, auf der linken Seite befindet. In einer Dosis bis zu 20 mg täglich per os entwickelte diese Verbindung keine antiskorbutische Wirksamkeit beim Meerschweinchen (25, 91, 92). DAYTON u. M. (22) untersuchten das Schicksal von C¹⁴-D-Ascorbinsäure im Stoffwechsel von Meerschweinchen und Ratte. Das Carboxyl-C-Atom der D-Ascorbinsäure wurde ebenso ausgiebig zu CO₂ oxydiert wie das der L-Ascorbinsäure, jedoch lief der Stoffwechsel und die Ausscheidung der D-Ascorbinsäure mit größerer Geschwindigkeit ab. Nach Meinung dieser Wissenschaftler könnte die geringe Retention der D-Form im Organismus zur Erklärung ihrer Inaktivität beitragen. Als ebenso unwirksam erwiesen sich D-Galaktato-(Abb. 67), L-Arabo- (Abb. 68) und D-Glucoascorbinsäure (Abb. 69). Aus der übereinstimmenden Wirkungslosigkeit aller Analogen mit nach links fallendem Laktonring schloß man (51, 57, 92, 93), daß die D-Konfiguration der Hydroxylgruppe am C₄-Atom eine Grundbedingung für die antiskorbutische Aktivität darstellt.

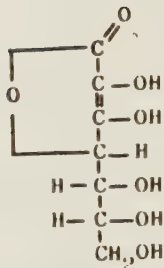
⁺) Die Zugehörigkeit zur D- oder L-Reihe wird durch die Stellung der OH-Gruppe des "untersten" asymmetrischen C-Atoms bestimmt (14).



D-Galaktoto-
Abb. 67



L-Arabo-
Abb. 68



D-Glucoascorbinsäure
Abb. 69

In neuerer Zeit jedoch tauchten Zweifel an der Inaktivität der D-Ascorbinsäure auf, da BURNS u. M. (13) Leben und Gewicht von Meerschweinchen unterhalten und einige skorbutische Symptome verhüten konnten, wenn sie nur durch häufiges Verabreichen des D-Isomeren seine rasche Ausscheidung kompensierten. Allerdings wiesen die Tiere hämorrhagische Defekte an den Gelenken und anormales Prädentin auf, weshalb diese Arbeitsgruppe annahm, D-Ascorbinsäure könne nur einige nicht-spezifische antiskorbutische Funktionen des Vitamins C übernehmen. ROBERTSON (99) dagegen schrieb ihr auch die spezifische antiskorbutische Potenz der L-Ascorbinsäure zu, da sie in 2 x täglich verabreichten Dosen von 100 mg die verschlechterte Kollagensynthese, den fundamentalen Defekt des Skorbut (98, 124), normalisieren konnte. Auf Grund dieses Befundes äußerte ROBINSON die Ansicht, daß viele Ascorbinsäure-Analoga als Vitamin wirkten, wenn nur adäquate Gewebekonzentrationen unterhalten würden. Die begrenzte Wirksamkeit, die BURNS u. M. bei D-Ascorbinsäure festgestellt hatten, beruhte seiner Ansicht nach auf zu geringer Dosierung (6 mg).

Das **D-Erythro-3-Keto-Hexonsäure-Lakton** (79, 80, 92) (s. Fußnote S. 149), welches sich als identisch mit der von OHLE u. M. (82) synthetisierten **D-Glucosaccharosonsäure** erwies, unterscheidet sich von der **L-Ascorbinsäure** nur durch die sterische Anordnung der Hydroxylgruppe am C_5 -Atom. Dieses Isomere des Vitamins C ging unter den Bezeichnungen **D-Isoascorbinsäure**, **D-Araboascorbinsäure** und "erythorbic acid" (Abb. 70) im angelsächsischen Sprachgebiet in die Literatur ein.

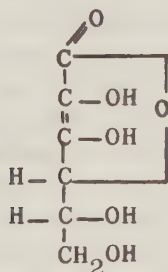


Abb. 70: **D-Araboascorbinsäure**

In guter Übereinstimmung ermittelten verschiedene Autoren (19, 25, 43, 126, 127) für die antiskorbutische Aktivität dieser Verbindung einen Wert von 1/20 derjenigen des Vitamins C; OHLE u. M. (82) und DALMER u. M. (19) fanden sie bei oraler Verabreichung sogar 40 mal schwächer wirksam als **L-Ascorbinsäure**. Dieser erhebliche Wirkungsabfall, welcher mit der an sich geringfügigen Änderung in der Raumanordnung einherging, erhellte die Bedeutung der **L-Konfiguration** der OH-Gruppe am C_5 . In einer neueren Arbeit stellten REIFF u. M. (94) fest, daß die **D-Isoascorbinsäure** bei vitamin-C-defizienten Meerschweinchen keinerlei therapeutischen Effekt zeigte, daß sie jedoch bei Tieren, die suboptimal mit Ascorbinsäure versorgt wurden, die Entwicklung

des Skorbutus hinauszögerte. Diese Beobachtung führten zu der Vermutung, daß die D-Isoascorbinsäure keine antiskorbutische Wirksamkeit per se ausübt, sondern nur in ihrer Eigenschaft als kräftiges Reduktionsmittel die in den Geweben gespeicherte Ascorbinsäure schützt.

IKEUCHI (65) beobachtete die Auswirkung von D-Isoascorbinsäure-Zufuhr bei C-hypovitaminotischen Landsleuten während und nach dem 2. Weltkrieg. Die im Harn ausgeschiedene Menge dieses Stereoisomeren diente ihm als Kriterium der Verwertbarkeit. Während der Organismus vitamin-C-verarmter Patienten einen hohen Prozentsatz der verabreichten Ascorbinsäure zurückhielt, wurden bei Applikation von D-Isoascorbinsäure mehr als 50 % der zugeführten Menge innerhalb von 6 Stunden im Harn ausgeschieden. Auf Grund dieser Ergebnisse hielt IKEUCHI die antiskorbutische Wirksamkeit dieser Verbindung beim Menschen für unbedeutend. WANG u. M. (123) bestätigten die hohe Ausscheidungsrate (50 - 70 %) der D-Isoascorbinsäure beim Menschen, die sich ihrer Meinung nach damit erklären läßt, daß die D-Form nach Passage des Glomeruli-Filters in den Nieren nur in unwesentlichen Mengen von den Tubuluszellen resorbiert wird. RIVERS u. M. (97) fanden bei oraler Verabreichung der D-Isoascorbinsäure ein Absinken der Ascorbinsäure-Konzentration der Leukozyten. Sie schlossen daraus, daß die L-Konfiguration am C₅-Atom eine Vorbedingung für die Aufnahme und Fixation von Ascorbinsäure in weißen Blutkörperchen ist und führten die hohe Exkretionsrate auf die begrenzte Verankerung dieser Molekülform im Gewebe zurück. Während D-Isoascorbinsäure-Zufuhr die Blutplasma-Konzentration von Ascorbinsäure bei vitamin-C-arm ernährten Personen nicht unterhalten konnte (123), verursachte die Verabreichung von D-Iso- bzw. L-Ascorbinsäure im Belastungstest vergleichbare Erhöhungen der Plasma-Konzentration von Vitamin C für 3 - 4 Stunden (68, 123).

Die D-Isoascorbinsäure gewann neues Interesse, als sie wegen ihrer reduzierenden Eigenschaft (29) als Antioxydans in Nahrungsmitteln Verwendung fand (68, 123). Da normalerweise der Blut-

spiegel zur Bestimmung der Vitamin-C-Versorgung einer Person herangezogen wird und da mit den gewöhnlich angewandten klinischen Methoden auch der Gehalt an D-Isoascorbinsäure im Blut gemessen wird, muß berücksichtigt werden, daß die Aufnahme des Isomeren zur Überbewertung des Vitamin-C-Gehaltes der Nahrung führt (68).

Wenngleich die D-Isoascorbinsäure keine nennenswerte antiskorbutische Wirksamkeit besitzt, gibt es doch Funktionen, in denen sie das L-Isomere vollständig ersetzen kann. GUGGENHEIM u. M. (47) berichteten, daß sie der L-Ascorbinsäure (70, 73) in bezug auf ihre entgiftenden Fähigkeiten von Kaliumcyanid bei *Escherichia coli*, Phenol und Tetanustoxin bei Mäusen sowie in der Umwandlung von Folsäure in citrovorum Faktor bei Ratten ebenbürtig ist. Während GOULD (40) die beeinträchtigte Kollagensynthese skorbutkranker Meerschweinchen mit D-Isoascorbinsäure nicht korrigieren konnte, stellten SHIMIZU u. M. (108) fest, daß sie in einer Konzentration von 200 mg/ml Kulturmedium die Hydroxyprolinsynthese menschlicher kultivierter Hautfibroblasten in demselben Maß förderte wie das Vitamin. Die Verfasser nahmen deshalb im Gegensatz zu GOULD an, daß die D-Isoascorbinsäure die Zellmembranen der Fibroblasten durchdringen kann. D-Isoascorbinsäure konnte auch die oxydierenden Aufgaben der L-Ascorbinsäure im Tyrosinstoffwechsel (71, 103, 104) übernehmen. Das Auftauchen von für Vitamin-C-Mangel typischen Metaboliten dieser Aminosäure im Harn wie Homogentisinsäure und p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure wurde durch D-Isoascorbinsäure in einer Dosis von 200 mg ebenso verhütet (106) wie durch Ascorbinsäure. Außerdem aktivierte D-Isoascorbinsäure, wenn sie in ausreichender Menge anwesend war, das tyrosin-oxydierende System in Leberextrakten von Meerschweinchen, während die später noch zu erwähnenden Strukturverwandten 3-Methyl- bzw. 2,3-Dimethyl-L-Ascorbinsäure keine Wirkung bei der Tyrosin-Oxydation entfalteten (105). Die Tatsache, daß für diesen Vorgang das unblockierte Endiol-Zentrum notwendig ist, unterstützte die Hypothese, daß

die Rolle der Ascorbinsäure in diesem System diejenige eines Wasserstoffüberträgers ist.

II. Änderungen an der Endiol-Gruppierung und anderen Hydroxylen

Als TILLMANS u. M. (117, 118) 1932 zeigten, daß decitrierter, mit der äquivalenten Menge 2,6-Dichlorphenol-indophenol oxydierter Zitronensaft bei sofortiger Verfütterung seine antiskorbutische Wirksamkeit behielt, erbrachten sie den Beweis, daß Ascorbinsäure ihre Vitaminfunktion sowohl in reduzierter als auch in oxydierter Form ausüben kann. Wenig später formulierten HIRST u. M. (58) die Dehydroascorbinsäure (DHA) als reversibles Oxydationsprodukt der Ascorbinsäure durch Abgabe von Wasserstoff (Abb. 71).

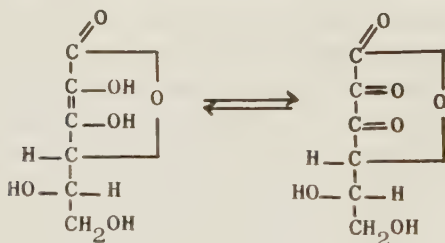


Abb. 71: Dehydroascorbinsäure

Die Ergebnisse aus Bestimmungen der antiskorbutischen Potenz der DHA waren zunächst widersprüchlich. Während HIRST u. M. (59), DEMOLE (24) und STRACHITSKII u. M. (112) sie etwas weniger wirksam fanden als Ascorbinsäure, ermittelten ROE u. M. (100) bei oraler und subkutaner Applikation nur einen Wert von 25 % der Aktivität des reduzierten Vitamins. GOULD u. M. (43) versuchten später diesen niedrigen Wert mit der Anwesenheit von inaktiver 2,3-Diketogulonsäure im DHA-Präparat zu erklären. FOX u. M. (34) bestätigten die hohe antiskorbutische Wirksamkeit der DHA. Es gelang ihnen sogar, ein während des Versuches

geborenes Meerschweinchen mit oxydiertem Vitamin aufzuziehen. BORSOOK u. M. (9) verabreichten mit Holzkohle behandelten Orangensaft an menschliche Patienten und stellten fest, daß er die Plasma-Ascorbinsäure-Konzentration auf demselben Spiegel hielt wie frischer Orangensaft. GOULD u. M. (43) benutzten das Wieder-Ansteigen der Serumphosphatase skorbutischer Meerschweinchen (42, 109) als Kriterium für die biologische Wirksamkeit der DHA und errechneten einen Wert von 80 % der L-Ascorbinsäure-Aktivität. PENNEY u. M. (84) schrieben kleinen Dosen DHA die gleiche Wirksamkeit zu wie dem reduzierten Vitamin.

Mit der Kenntnis, daß DHA einen bedeutenden Anteil des totalen Ascorbinsäuregehaltes mancher Nahrungsmittel darstellen kann (76, 101), entstand umso mehr die Notwendigkeit, den Grad der Verwertbarkeit dieser Ascorbinsäureform zu bestimmen. TOD-HUNTER u. M. (119) fanden nach Verabreichung von 65 mg/Tag Ascorbinsäure in Form von Orangensaft oder der gleichen Menge DHA in Form von Norit-behandeltem Orangensaft an Menschen vergleichbare Ascorbinsäurespiegel in Blut und Harn. Als durch PECHERER (83) 1950 kristalline DHA verfügbar wurde, stellten DE RITTER u. M. (96) mit Hilfe der Ascorbinsäure-Ausscheidung im Harn fest, daß diese reine DHA bei oraler Verabreichung vom Menschen voll ausgenutzt werden konnte. CLAYTON u. M. (15) führten Meerschweinchen DHA in einer Dosis von 2 mg täglich durch intravenöse Injektion zu; diese Gabe war ausreichend, Skorbut zu verhüten und die Weiterentwicklung der Tiere zu gewährleisten. SABRY u. M. (101) verglichen die Verwertbarkeit der oxydierten bzw. reduzierten Form nach oraler Verabreichung an Menschen auf Grund des Blutplasmaspiegels bzw. der Harnausscheidung von Ascorbinsäure und Gesamtascorbinsäure bei zwei verschiedenen Dosen. Während DHA und Ascorbinsäure der Dosis entsprechend den Vitamin-C-Spiegel des Blutplasmas in gleicher Weise erhöhten, war die Harnausscheidung von Ascorbinsäure und Gesamtascorbinsäure bei DHA-Aufnahme etwas geringer

als bei Ascorbinsäure-Zufuhr. Außerdem ließen die Meßergebnisse daran denken, daß die kleinere tägliche Dosis wirtschaftlicher ausgenutzt wurde als die größere, ein Befund, der schon 15 Jahre früher PENNEY u. ZILVA (84) bei ihren Experimenten mit Meer-schweinchen beschäftigte.

MARTIN (78) beobachtete bei der Verabreichung von C^{14} -DHA, daß die oxydierte Form schneller ein Gleichgewicht zwischen der Konzentration in Gehirn bzw. Auge und der im Serum erreichte als die reduzierte. Der Verfasser nahm an, daß DHA, da sie nicht-ionisiert und mehr lipophil ist, die Zellmembranen leichter durchqueren kann, und so die Transportform der Ascorbinsäure bei der Permeation durch Lipidmembranen darstellt (7). Während GOULD (40) der DHA bei der Kollagensynthese skorbutischer Meerschweinchen dieselbe Aktivität zuschrieb wie L-Ascorbinsäure, konnten SHIMIZU u. M. (108) in einer Kultur menschlicher Hautfibroblasten keine Wirksamkeit auf die Hydroxyprolin-Produktion feststellen. Da DHA jedoch nach Cystein-Zugabe wirksam wurde, nahmen sie an, daß dieser Vorgang die reduzierten Hydroxygruppen der Ascorbinsäure benötigt.

Die Vitaminwirksamkeit der DHA löste eine Reihe von Arbeiten aus zur Klärung ihres Verhaltens im Stoffwechsel. 1934 beobachteten ZILVA u. M. (67) nach Verabreichung großer Dosen DHA oral an Menschen nur Ascorbinsäure im Harn und schlossen daraus, daß der Organismus die oxydierte Form des Vitamins reduzierte. Diese Ansicht wurde zunächst nur durch das Auffinden einer Dehydroascorbinsäure-Reduktase in Pflanzengewebe unterstützt, welche den Transfer des Wasserstoffs vom reduzierten Glutathion oder anderer Sulfhydrylgruppen-haltiger Verbindungen auf DHA katalysiert (12, 17, 18, 62, 66, 86, 125).

Weitere Arbeiten erbrachten dann Hinweise und Beweise, daß auch tierische Gewebe wie Blut (100), Leber (84) und Magen- bzw. Dünndarmwand (84, 85) die Reduktion zu Ascorbinsäure durchführen und daß dieser Vorgang ebenfalls enzymatischer

Natur ist (63, 64, 115). Außerdem wurde die Reduktion der DHA bei Mikroorganismen (*E. coli*, *Staphylococcus*-Arten) beobachtet (46, 111). *E. coli* reduzierte auch die oxydierte Form anderer Endiole wie die der D-Isoascorbinsäure (77). MAPSON u. M. (77) hielten eine bakterielle Reduktion der DHA im Darm für möglich.

Neben der Umwandlung der DHA in Ascorbinsäure wurde ein anderer Abbauweg der oxydierten Form bekannt. HERBERT u. M. (56) beobachteten zunächst in vitro die Umwandlung von DHA in Diketogulonsäure in saurer Lösung; 10 Jahre später zeigten PENNEY u. M. (84), daß die gleiche Reaktion bei der Verabreichung großer Dosen DHA auch im Organismus abläuft, ohne allerdings reversibel zu sein wie die in vitro. Diese Beobachtung bot eine Erklärung für die wirtschaftlichere Ausnutzung kleiner Dosen DHA, welche bei der Passage durch die Magen- bzw. Dünndarmwand schnell und ohne Verlust durch Umwandlung in Diketogulonsäure reduziert werden, während sich bei großen Dosen DHA der Eintritt in den Blutstrom verzögert und ein Teil durch Bildung inaktiver Diketogulonsäure verloren geht (20, 84).

Die Kenntnis, in welcher Weise die Ascorbinsäure im Organismus der von ihr abhängig gewordenen Lebewesen wirkt, ist nur unzureichend. Sie läßt sich sowohl enzymatisch als auch nicht-enzymatisch leicht oxydieren und kann daher als Wasserstoffdonator bzw. -akzeptor (DHA) in die biologischen Redoxvorgänge der Zelle eingeschaltet werden (66). Sie spielt diese Rolle bei der Hydroxylierung verschiedener Substanzen (Hydroxyprolin, 5-Hydroxytryptophan, p-Hydroxyphenylpyruvat-Oxydase), bei der Umwandlung von Folsäure in Tetrahydrofolsäure, bei der Aufrechterhaltung der Redoxgleichgewichte von $\text{Fe}^{++}/\text{Fe}^{+++}$ und $\text{Cu}^{+}/\text{Cu}^{++}$, bei der Oxydation von NADH_2 in pflanzlichen und tierischen Zellen und nimmt an der Biosynthese von Mucopolysacchariden teil (7, 49, 54, 102).

Die Bedeutung der Endiol-Gruppierung für die Vitamin-C-Wirk-samkeit einer Verbindung wurde auch aus dem Verhalten anderer

Derivate offensichtlich. L-Ascorbinsäure reagiert mit Diazomethan unter Bildung des 3-Methyläthers (Abb. 72), welcher sich bei Diazomethanüberschuß zu 2,3-Dimethyläther (Abb. 72) weiter methylieren läßt (50, 52, 53, 92).

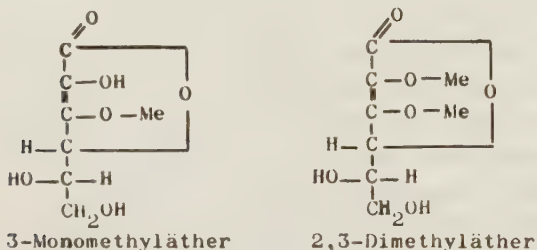


Abb. 72

Während das Dimethylvitamin mit vollständig methylierter Endiol-Gruppe keine antiskorbutische Wirksamkeit auf das Meerschweinchen mehr ausübte. (27a, 28), blieb dem Monomethyläther etwas Vitaminaktivität erhalten. Die Angaben über den Grad seiner biologischen Potenz variieren. 1937 beschrieben zunächst BEZSSONOFF u. M. (8) seine antiskorbutische Wirksamkeit als "extrem schwach". VESTLING u. M. (120, 121) stellten später fest, daß eine tägliche Dosis von 20 mg 3-Methylascorbinsäure in 75 Tagen dieselbe Wachstumsreaktion hervorrief wie eine tägliche Gabe von 2 mg Ascorbinsäure. GOULD u. M. (36, 41) zeigten mit Hilfe der Serumphosphatase-Bestimmung und der histologischen Untersuchung der Zahnstruktur, daß sie nur 1/50 so aktiv ist wie das Vitamin. Da sich sowohl der Blutphosphatase-Spiegel als auch der Zustand der Odontoblasten nach 3-Methylascorbinsäure-Zugabe nur zögernd besserte im Gegensatz zur prompten Reaktion auf Ascorbinsäure, nahmen die Verfasser ebenso wie auch VESTLING u. M. (121) an, daß der Äther erst vom Organismus gespalten werden muß, ehe er biologisch aktiv werden

kann.

Dagegen zeigte die 1-Methylheteroascorbinsäure, welche bei der Methylierung mit Diazomethan in kleinen Mengen entsteht (87), hohe antiskorbutische Aktivität (41).

Auf Grund ihrer Konstitution läßt sich die Ascorbinsäure mehr oder weniger leicht in zwei verschiedene Acetyl-Derivate überführen. Bei teilweiser Acetylierung entsteht die 5,6-Diacetylascorbinsäure (16), bei vollständiger Acetylierung bildet sich unter Acetylierung der 2,3-Endiol-Gruppierung die 2,3-5,6-Tetraacetylascorbinsäure (27, 32, 48). Im modifizierten Odon-toblastentest von FELDHEIM (30) bewies das nur an den C-Atomen 5 und 6 acetylierte Derivat bei oraler Verabreichung volle antiskorbutische Aktivität, während die vierfach acetylierte Verbindung in hohen Dosen höchstens 1/10 der L-Ascorbinsäure-Wirksamkeit besaß. Die Wirksamkeit der Diacetyl-Verbindung überraschte nicht, da die biologisch aktive Gruppierung an den C-Atomen 2 und 3 nicht behindert ist. Die geringe Aktivität der Tetraacetylverbindung erklärte sich daraus (32), daß das biologisch wichtige Elektronensystem der Endiol-Gruppe durch die Acetylreste blockiert ist und seine Wirksamkeit erst zurückgewinnt, wenn der Organismus vielleicht durch Hydrolyse die wirksame Gruppe wieder freisetzt.

Die von VESTLING u. M. (120a) synthetisierte 2,3-Diphenacyl-Ascorbinsäure zeigte in oral verabreichten Tagesdosen von 60 mg überhaupt keine antiskorbutische Aktivität bei Meer-schweinchen.

Neben den Acetyl-Derivaten der Ascorbinsäure wurden ihre Fett-säureester dargestellt, bei denen es sich vermutlich um Mono-ester der primären Hydroxylgruppe handelt (114). Von diesen wurde das Ascorbinsäure-Palmitat von verschiedenen Autoren (1a, 10a, 23, 39, 96) auf seine antiskorbutische Wirksamkeit geprüft und in äquivalenten Mengen voll wirksam gefunden. Die Ascorbinsäureester gewannen als Antioxydantien für Fette und Öle vermehrtes Interesse (95).

III. Der Laktonring

Die Inaktivität von 2-Keto- bzw. 2,3-Diketogulonsäure in antiskorbutischen Tests galt immer als Beweisstück dafür, daß der Laktonring für die Vitamin-C-Wirksamkeit einer Substanz ein unentbehrlicher Baustein ist (6, 18a, 43, 74, 75, 88, 91). Vor kurzem jedoch konnten LANG u. M. (69) skorbutische Meerschweinchen mit 2-Ketogulonsäure heilen. Sie sprachen ihr die gleiche therapeutische Wirksamkeit zu wie der L-Ascorbinsäure. Ebenso beobachtete FELDHEIM (30), daß 2-Keto-L-Gulonsäure, in einer Dosis von etwa 0.8 pro Tag und Tier verabfolgt, antiskorbutische Wirkung entfaltete. Zwar stellte dieser Befund die Bedeutung des Laktonrings nicht unbedingt in Frage, da die inzwischen von LEHNINGER u. M. (11, 72) auch in Meerschweinchen- und Affenlebern entdeckte Aldonolactonase, welche die Laktonisierung des L-Gulonats in der Umwandlung von D-Glucuronat in Ascorbinsäure katalysiert, eine Erklärung für das Wirksamwerden der 2-Ketogulonsäure geben könnte, aber er gibt zu bedenken, warum die Ketogulonsäure in allen vorausgegangenen Experimenten keine antiskorbutische Aktivität besaß. Wenn die Ketogulonsäure tatsächlich Vitaminwirksamkeit besitzt, verliert die Hypothese über die bessere Ausnutzung kleiner Dosen DHA ihre Basis.

Demgegenüber war die Aktivität des Methylesters der L-2-Ketogulonsäure (Abb. 73) bei skorbutischen Meerschweinchen schon 1936 bekannt.

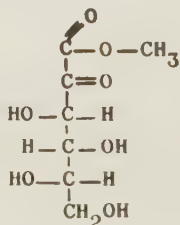


Abb. 73: 2-Ketogulonsäure-methylester

Seine Wirksamkeit war damals im Hinblick auf die beobachtete Unwirksamkeit der freien Säure kaum zu verstehen, und man vermutete, daß nur die veresterte Form vom Organismus in Ascorbinsäure überführt werden könnte (28, 57). Die Versuchsergebnisse von LANG u. M. (69) und FELDHEIM (30) lassen sich dagegen besser mit den antiskorbutischen Eigenschaften des Esters vereinbaren. REICHSTEIN u. M. (91) schrieben ihm 1/5 der Ascorbinsäure-Wirksamkeit zu, was GOLDSCHMIDT u. M. (37) später bestätigten. Trotz der relativ geringen Potenz und obwohl über seine Wirksamkeit beim Menschen nichts bekannt war, wurde 1937 in Holland das Vitaminieren der Nahrungsmittel mit diesem Ester von Hoffman-La-Roche patentiert (60). Erst die Experimente von VAN EEKELEN u. M. (28) ergaben, daß er beim Menschen nur 1/7 der Ascorbinsäure-Aktivität besitzt und so das Vitamin weder in Therapie noch in der Anreicherung von Nahrungsmitteln einsetzen kann. Auch andere Ester der 2-Keto-L-Gulonsäure wie die Äthyl-, i-Propyl-, n-Butyl- und i-Amylverbindungen entwickelten, in Dosen von 4 % der Diät an Meerschweinchen verfüttert, Vitamin-C-Wirksamkeit (30). Der Cyclohexyl- und der Phenylester der 2-Ketogulonsäure besaßen ungefähr 1/5 der Vitamin-C-Aktivität beim skorbutischen Meerschweinchen (91).

IV. Änderungen der Seitenkette

Für die Vitamin-C-Wirksamkeit einer Substanz ist auch die Seitenkette erforderlich, die dem Laktonring am C_4 -Atom angehängt ist. Die Hydroxytetronsäure (Abb. 74), welche ein Analoges der Ascorbinsäure ohne Seitenkette darstellt, besaß keine antiskorbutische Aktivität (19, 81). Die vorhandene Seitenkette ließ sich in verschiedener Weise modifizieren. Um die Frage zu lösen, ob das Hydroxyl in 6-Stellung für die biologische Aktivität unentbehrlich ist, synthetisierten MÜLLER u. REICHSTEIN (81) die 6-Desoxy-L-Ascorbinsäure (Abb. 75). Diese Substanz behielt im kurativen Test mit skorbutischen Meerschweinchen 1/3 der Vitamin-C-Wirksamkeit (26). Bei Verlängerung der Seitenkette auf 3-Atome entstanden die Homologen L-Glucoascorbinsäure (51, 90, 127) und

L-Galaktoascorbinsäure (122) (Abb. 76), welche 40 bzw. 60 mal schwächer wirksam waren als die L-Ascorbinsäure. D-Glucoheptascorbinsäure mit 4-C-Atomen in der Seitenkette besaß nur noch 1/100 der Vitamin-C-Aktivität (91). REICHSTEIN u. M. (93) verlängerten die Seitenkette um eine CH_3 -Gruppe am C-Atom 6; die Wirksamkeit dieser L-Rhamnoascorbinsäure (Abb. 77) war ca. 5 mal schwächer als die des Vitamins. Die danach dargestellte L-Fucoascorbinsäure entsprach in der Zahl der C-Atome der L-Rhamnoascorbinsäure, unterschied sich aber von ihr in der Konfiguration der Hydroxylgruppe am C-Atom 5 und behielt nur 0.5 % der antiskorbutischen Wirksamkeit von Vitamin C (91).

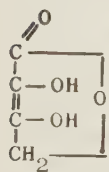


Abb.74

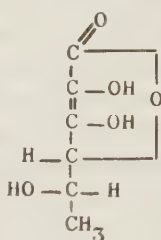


Abb.75

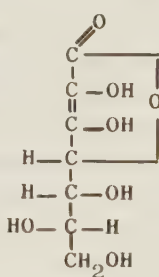


Abb.76

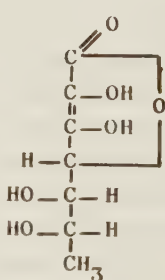


Abb.77

V. Ascorbigen

Abschließend sei noch eine besondere Form der Ascorbinsäure erwähnt, die nach ihrer Entdeckung durch AHMAD (1) und MC HENRY u. M. (80a) von GUHA u. M. (38, 43, 43a) als Ascorbigen (Abb. 78) bezeichnet wurde. Ascorbigen kommt nur in Pflanzen der Brassicagruppe vor; 1954 gelang es PROCHAZKA u. M. (89) das erste reine Ascorbigen aus Wirsingkohl (*Brassica oleracea*) zu isolieren. Es kommt jedoch nicht, wie zunächst angenommen, in der lebenden intakten Pflanze vor, sondern bildet sich erst in

zerkleinertem Pflanzenmaterial aus Glucobrassicin und Ascorbinsäure unter Einwirkung des freigesetzten Enzyms Myrosinase (35). Seit GMELIN u. M. (35) diese Synthese bekannt machten, gilt für den Bau des Ascorbigens die folgende Strukturformel (Abb. 78):

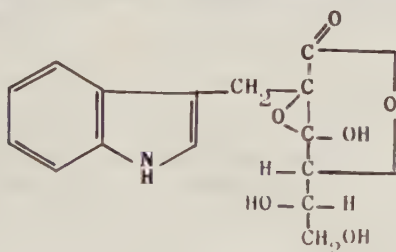


Abb. 78: Ascorbigen

Das Ascorbigen wurde zunächst für eine vitamin-C-wirksame Verbindung gehalten, die nur 2 - 2.5 mal schwächer wirkte als die freie Ascorbinsäure (113). Aber 1960 berichtete FELDHEIM (31), daß aus Wirsingkohl isoliertes Ascorbigen in Dosen von 1 mg/Tag per os keine antiskorbutische Wirksamkeit bei Meerschweinchen besaß und folgerte, daß der Magensaft nicht in der Lage ist, die in Ascorbigen gebundene Ascorbinsäure durch Hydrolyse freizusetzen, eine Reaktion, die GUHA u. M. (38) in vitro mit Säure gelang. Auch synthetisches Ascorbigen entfaltete in täglichen Dosen bis zu 10 mg (entsprechend etwa 4.5 mg Ascorbinsäure in gebundener Form) keine Vitamin-C-Wirksamkeit. 70 - 80 % der verabreichten Dosis wurden im Harn unverändert wieder ausgeschieden. Die früher festgestellte Wirksamkeit, die auch den Namen des Ascorbigens bedingte, beruhte wahrscheinlich auf der Verwendung unreinen Ascorbigens (33).

C. Zusammenfassung

Tab. 6: Übersicht über die in Teil B abgehandelten Vitamin-C-verwandten Verbindungen und ihre biologische Aktivität

Vitamin-C-verwandte Verbindungen	relative antiskorbutische Wirksamkeit/Mol im Vergleich zur Ascorbinsäure		relative Wirksamkeit/Mol bei der Ausübung anderer Vitaminfunktionen
	Meer-schwein	Mensch	
D-Ascorbinsäure	"unwirk-sam" und "antiskor-butisch wirksam"		
D-Isoascorbinsäure (D-Araboascorbinsäure)	0 - 5 %	unbedeu-tend	in der entgiften-den Fähigkeit be-stimmter Stoffe in bestimmten Orga-nismen: 100 % ; in der Förderung der Hydroxypro-linsynthese mensch-licher Hautfibro-blasten "nicht" und "voll" wirk-sam in der Tyrosin-Oxydation (Meer-schwein): 100 %
L-Araboascorbinsäure	-		
Dehydroascorbinsäure	ca. 100 %	100 %	
2,3-Dimethyläther der Ascorbinsäure	-		
3-Monomethyläther der Ascorbinsäure	2 - 10 %		

Fortsetzung Tab. 6

Vitamin-C-verwandte Verbindungen	relative antiskorbuto- tische Wirksamkeit/ Mol im Vergleich zur Ascorbinsäure		relative Wirksamkeit/ Mol bei der Aus- übung anderer Vita- minfunktionen
	Meer- schwein	Mensch	
1-Methylheteroas- corbinsäure	"hohe anti- skorbut. Aktivität"		
5,6-Diacetylascor- binsäure	100 %		
2,3,5,6-Tetraacetyl- ascorbinsäure	höchstens 10 %		
Palmitoylascorbin- säure	100 %	100 %	
2-Ketogulonsäure	"unwirksam" "voll anti- skorbutisch"		
2-Ketogulonsäure- methylester	20 %	ca.14 %	
2-Ketogulonsäure- äthylester -i-propylester -n-butylester -i-amylester	wirksam		
2-Ketogulonsäure cyclohexylester -phenylester	20 %		
Hydroxytetronsäure	-		
6-Desoxy-L-Ascorbin- säure	33 %		
L-Glucoascorbinsäure	2.5 %		
D-Glucoascorbinsäure	-		
L-Galaktoascorbinsäure	1.66%		

Fortsetzung Tab. 6

Vitamin-C-verwandte Verbindungen	relative antiskor- butische Wirksam- keit/Mol im Vergleich zur Ascorbinsäure		relative Wirksam- keit/Mol bei der Ausübung anderer Vitaminfunktionen
	Meer- schwein	Mensch	
D-Glaktoscorbin- säure	-		
L-Rhamnoscorbin- säure	20 %		
D-Glucoheptoscor- binsäure	1 %		
L-Fuocoscorbinsäure	0.5 %		
Ascorbigen	-	-	

D. Literaturnachweis:

Vitamin C-wirksame Substanzen

1. AHMAD, B.: Nature 136, 797 (1935)
- 1a. AMBROSE, A.M., F. DE EDS: Arch. Biochem. 12, 375 (1947)
2. AULT, R.G., D.K. BAIRD, H.C. CARRINGTON, W.N. HAWORTH, R. HERBERT, E.L. HIRST, E.G.V. PERCIVAL, F. SMITH, M. STACEY: J. chem. Soc. 1419 (1933)
3. BABBAR, I.J.: Indian J. Med. Res. 38, 263 (1950)
4. BACHSTEZ, M., G. CAVALLANI: Chimica e industria 19, 433 (1937); C.A. 31, 8510 (1937)
5. BAIRD, D.K., W.N. HAWORTH, R.W. HERBERT, E.L. HIRST, F. SMITH, M. STACEY: J. chem. Soc. 62 (1934)
6. BALL, E.G.: J. biol. Chem. 134, 177 (1940)
7. BERSIN, T.: Biochemie der Vitamine. Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt/Main 1966, S. 234, 242
8. BEZSSONOFF, N., R. SACREZ: C.r. Soc. biol. 124, 356 (1937)
9. BORSOOK, H., H.W. DAVENPORT, C.E.P. JEFFREYS, R.C. WARNER: J. biol. Chem. 117, 237 (1937)
10. BRIGL, P., TH. PLOETZ: in Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch. I. Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1951, S. 312
- 10a. BRUBÄCHER, G., J.P. VUILLEUMIER: Wissenschaftliche Veröffentlichungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung 14, 61 (1965)
11. BUBLITZ, C., A.L. LEHNINGER: Biochim. biophys. Acta 47, 288 (1961)
12. BUKIN, V.N.: Biochimija 18, 60 (1943); zit. nach YAMAGUCHI, JOSLYN: Arch. Biochem. biophys. 38, 451 (1952)
13. BURNS, J.J., H.N. FULLMER, P.G. DAYTON: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 101, 46 (1959)
14. CARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961, S. 209
15. CLAYTON, B.E., R.R. MC SWINEY, F.T.G. PRUNTY: Biochem. J. 58, 542 (1954)
16. CREIGHTON, M., W. WENNER, H.M. WUEST: J. org. Chem. 13, 613 (1948)
17. CROOK, E.M.: Biochem. J. 35, 226 (1941)
18. CROOK, E.M., F.G. HOPKINS: Biochem. J. 32, 1356 (1938)

- 18a. CURTIN, C., O'H, C.G. KING: J. biol. Chem. 216, 539 (1955)
19. DALMER, O., T.H. MOLL: Z. physiol. Chem. 222, 116 (1933)
20. DANRON, C.M., M.M. MONIER, J.H. ROE: J. biol. Chem. 195, 599 (1952)
21. DAYTON, P.G.: J. Nutr. 88, 338 (1966)
22. DAYTON, P.G., J.J. BURNS: J. biol. Chem. 231, 85 (1958)
23. DELGA, J., R. BOULU: Ann. pharm. fr. 15, 691 (1957)
24. DEMOLE, V.: Z. physiol. Chem. 217, 83 (1933)
25. DEMOLE, V.: Biochem. J. 28, 770 (1934)
26. DEMOLE, V.: Helv. 21, 277 (1938)
27. DEVYATNIN, V.D.: Khim. Referat. Zhur 4, 71 (1941); C.A. 38, 2789 (1944)
- 27a. DORNOU, A., C. PETSCH: Arzneimittelforsch. 5, 536 (1955)
28. EEKELEN, M. VAN, P.J. VAN DER LAAN: Arch. neerl. de physiol. 27, 182 (1943)
29. ESSELEN, W.B., JR., J.J. POWERS, R. WOODWARD: Ind. eng. Chem. 37, 295 (1945)
30. FELDHEIM, W.: Diss. 1957, Jena
31. FELDHEIM, W.: Int. Z. Vitaminforsch. 31, 297 (1960)
32. FELDHEIM, W., M. CZERNY: Biochem. Z. 331, 150 (1959)
33. FELDHEIM, W., Z. PROCHAZKA: Int. Z. Vitaminforsch. 32, 251 (1962)
34. FOX, F.W., L.F. LEVY: Biochem. J. 30, 211 (1936)
35. GMELIN, A., A.I. VIRTANEN: Ann. Acad. Sci. fennicae Ser. A. II Chemica Nr. 107, 1 (1961)
36. GOLDMAN, H.M., B.S. GOULD: J. Nutr. 43, 193 (1951)
37. GOLDSCHMIDT, St., A.M.W. MENNEGA, A.J. VAN PELT: Acta brev. neerl. de physiol. 7, 109 (1942)
38. GOSH, B., B.C. GUHA: J. Ind. Chem. Soc. 16, 505 (1939)
39. GOSWAMI, M., S. MUKERJI, S.N. RAY: Sci. Culture 14, 35 (1948)
40. GOULD, B.S.: J. biol. Chem. 232, 637 (1958)
41. GOULD, B.S., H.M. GOLDMAN, J.T. CLARKE, JR.: Arch. Biochem. 23, 205 (1949)
42. GOULD, B.S., H. SHWACHMAN: Am. J. Physiol. 135, 271 (1942)
43. GOULD, B.S., H. SHWACHMAN: J. biol. Chem. 151, 439 (1943)
44. GUHA, B.C., J.C. PAL: Nature 137, 946 (1936)
45. GUHA, B.C., J.C. PAL: Nature 139, 843 (1937)
46. GUNSALUS, I.C., D.B. HAND: J. biol. Chem. 141, 853 (1941)

47. GUGGENHEIM, K., J. LEIBOWITZ, D. RAKOVER: Biochem. J. 55, 388 (1953)
48. HAMAMURA, Y., T. HAYASHITA: J. agr. chem. Soc. Jap. Bull. 22, 26 (1948)
49. HARRIS, L.J.: Proc. Roy. Soc. (London) 156, 295 B (1962)
50. HAWORTH, W.N., E.L. HIRST: Helv. 17, 520 (1934)
51. HAWORTH, W.N., E.L. HIRST, J.K.N. JONES: J. chem. Soc. 549 (1937)
52. HAWORTH, W.N., E.L. HIRST, F. SMITH: J. chem. Soc. 1556 (1934)
53. HAWORTH, W.N., E.L. HIRST, F. SMITH, W.J. WILSON: J. chem. Soc. 829 (1937)
54. HEATH, H., R. FIDDIK: Nature 202, 1128 (1964)
55. HELFERICH, B., O. PETERS: Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 465 (1937)
56. HERBERT, R.W., E.L. HIRST, E.G.V. PERCIVAL, R.J.W. REYNOLDS, F. SMITH: J. chem. Soc. 1270 (1933)
57. HIRST, E.L.: Fortschr. Ch. org. Naturst. 2, 132 (1939)
58. HIRST, E.L., E.G.V. PERCIVAL, F. SMITH: Nature 131, 617 (1933)
59. HIRST, E.L., S.S. ZILVA: Biochem. J. 27, 1271 (1933)
60. Hoffmann-La-Roche: Nr. 40711, 16. April 1937; zit. nach Nr. 28
61. HOLST, A., T. FRÖHLICH: J. Hyg. 7, 634 (1907); zit. nach Nr. 56
62. HOPKINS, F.G., E.J. MORGAN: Biochem. J. 30, 1446 (1936)
63. HUGHES, R.E.: Nature 203, 1068 (1964)
64. HUGHES, R.E., C.S. KILPATRICK: Clin. chim. Acta 2, 241 (1964)
65. IKEUCHI, M.: Vitaminology 1, 193 (1955)
66. JAENECKE, H., M.H. RAGAB: Int. Z. Vitaminforsch. 27, 140 (1956)
67. JOHNSON, S.W., S.S. ZILVA: Biochem. J. 28, 1393 (1934)
68. KADIN, H., M. OSADCA: J. Agr. Food Chem. 7, 358 (1959)
69. KIECKEBUSCH, W., K. LANG: Z. Ernährungswiss. 3, 57 (1962)
70. KLIGLER, J.J., K. GUGGENHEIM, F.M. WARBURG: J. Path. Bact. 46, 619 (1938)
71. LAN, T.H., R.R. SEALOOK: J. biol. Chem. 155, 483 (1944)
72. LEHNINGER, A.L., J. WINKELMAN: J. biol. Chem. 233, 794 (1958)

73. LEIBOWITZ, J., K. GUGGENHEIM: Int. Z. Vitaminforsch. 8, 8 (1938)
74. LORENZINI, G., A. CORBELLINI: Arch. ist. biochem. ital. 10, 131 (1938); zit. nach Nr. 42
75. MAPSON, L.W.: in SEBRELL, JR., R.S. HARRIS: The Vitamins. Band I, 215 Academic Press Inc. Publ. New York 1954
76. MAPSON, L.W.: ibid. S. 228
77. MAPSON, L.W., F. INGRAM: Biochem. J. 48, 551 (1951)
78. MARTIN, G.R.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 141 (1961)
79. MAURER, K., B. SCHIEDT: Ber. dtsch. chem. Ges. 66, 1054 (1933)
80. MAURER, K., B. SCHIEDT: ibid. 67, 1239 (1934)
- 80a. MC HENRY, E.W., W.L. GRAHAM: Nature 135, 871 (1935)
81. MÜLLER, H., T. REICHSTEIN: Helv. 21, 273 (1938)
82. OHLE, H., H. ERLBACH, H. CARLS: Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 324 (1934)
83. PECHERER, B.: Abstr. 118th Meeting of the amer. chem. Soc. 1950, 2 C; J. amer. chem. Soc. 73, 3829 (1951)
84. PENNEY, J.R., S.S. ZILVA: Biochem. J. 37, 403 (1943)
85. PENNEY, J.R., S.S. ZILVA: Biochem. J. 40, 695 (1946)
86. PFANNKUCH, E.: Naturwiss. 22, 821 (1934)
87. PROCHAZKA, Z.: in J. FRAGNER: Die Vitamine. Band I, 408. Gustav Fischer Verlag, Jena 1964
88. PROCHAZKA, Z.: ibid. S. 415
89. PROCHAZKA, Z., V. SÁNDÁ, F. SORM: Chem. listy 50, 167 (1956); zit. nach PROCHAZKA: in FRAGNER: Die Vitamine. Band I, 395, 396. Gustav Fischer Verlag, Jena 1964
90. REICHSTEIN, T.: Nature 134, 724 (1934)
91. REICHSTEIN, T., V. DEMOLE: Festschrift EMIL BARELL, Basel, 1936
92. REICHSTEIN, T., A. GRÜSSNER, R. OPPENHAUER: Helv. 17, 510 (1934)
93. REICHSTEIN, T., L. SCHWARZ, A. GRÜSSNER: Helv. 18, 353 (1935)
94. REIFF, J.A., A.H. FREE: J. Agr. Food Chem. 7, 55 (1959)
95. RIEMENSCHNEIDER, R.W., J. TURER, P.A. WELLS, W.C. AULT: Oil and Soap 21, 47 (1944); zit. nach Nr. 1
96. RITTER, E. DE, N. COHEN, S.H. RUBIN: Science 113, 628 (1951)

97. RIVERS, J.M., E.D. HUANG, M.L. DODDS: J. Nutr. 81, 163 (1963)
98. ROBERTSON, W.B.VAN: Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 159 (1961)
99. ROBERTSON, W.B. VAN: Biochim. biophys. Acta 74, 137 (1963)
100. ROE, J.H., G.L. BARNUM: J. Nutr. 11, 359 (1936)
101. SABRY, J.H., K.H. FISHER, M.C. DODDS: J. Nutr. 64, 457 (1958)
102. SCHNEIDER, W., H.J. STAUDINGER: Klin. Wschr. 42, 879 (1964)
103. SEALOCK, R.R. u. H.E. SILBERSTEIN: Science 90, 517 (1939)
104. SEALOCK, R.R., R.L. GOODLAND: J. biol. Chem. 178, 939 (1949)
105. SEALOCK, R.R., R.L. GOODLAND, W.W. SUMERWELL, J.M. BRIERLY: J. biol. Chem. 196, 761 (1952)
106. SEALOCK, R.R., H.E. SILBERSTEIN: J. biol. Chem. 135, 251 (1940)
107. SHIMAZONO, N., Y. MANO: Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 91 (1961)
108. SHIMIZU, Y., D.S. MC CANN, M.K. KEECH: J. lab. clin. Med. 66, 659 (1965)
109. SHWACHMAN, H., B.S. GOULD: J. Nutr. 23, 271 (1942)
110. STEPP, W., J. KÜHNAU, H. SCHROEDER: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. F. Enke Verlag, Stuttgart 1957, S. 602
111. STEWART, A.P., P.F. SHARP: Ind. eng. Chem. Anal. 17, 373 (1945)
112. STRACHITSKII, K.J., B.A. RUBIN: Biochimija 1, 642 (1936); C.A. 31, 7931 (1937)
113. SUNZOV, B.M.: Biochimija 12, 539 (1947); zit. nach Nr. 33
114. SWERN, D., A.J. STIRTON, J. TURER, P.A. WELLS: Oil and Soap 20, 224 (1943); zit. nach Nr. 1
115. THOMSON, C.G., B. IGGO, A.C. BROWNIE, C.P. STEWART: Clin. chim. Acta 1, 557 (1956)
117. TILLMANS, J., P. HIRSCH, W. HIRSCH: Zschr. Unters. Lebensm. 63, 1 (1932)
118. TILLMANS, J., P. HIRSCH, F. SIEBERT: ibid. 63, 21 (1932)
119. TODHUNTER, E.N., T. MC MILLAN, D.A. EHMKE: J. Nutr. 42, 297 (1950)
120. VESTLING, C.S., M.C. REBSTOCK: Fed. Proc. 4, 108 (1945)
- 120a. VESTLING, C.S., M.C. REBSTOCK: J. biol. Chem. 161, 285 (1945)
121. VESTLING, C.S., M.C. REBSTOCK: J. biol. Chem. 164, 631 (1946)
122. VOGEL, H.: Chemie und Technik der Vitamine. F. Enke Verlag, Stuttgart 1940

123. WANG, M.M., K.H. FISHER, M.L. DODDS: J. Nutr. 77, 443 (1962)
124. WOLBACH, S.B.: J. Pathol. Suppl. 9, 689 (1933)
125. YAMAGUCHI, M., M.A. JOSLYN: Arch. Biochem. biophys. 38, 451 (1952)
126. YOURGA, F.J., W.B. ESSELEN, JR., C.R. FELLERS: Food Res. 2, 188 (1944)
127. ZILVA, S.S.: Biochem. J. 29, 1612 (1935)

ZUSAMMENFASSUNG

An Hand der Literatur wurden Ergebnisse aus Untersuchungen über die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung für die Vitamine A, B₁, B₆, Biotin und C zusammengestellt.

Die Wirksamkeit dieser Vitamine ist strukturspezifisch, denn Modifikationen ihrer Moleküle bedingen zumeist eine Abnahme ihrer Aktivität. Volle Vitaminwirksamkeit findet sich nur bei den Analogen, die vom Organismus in ausreichender Menge wieder in das Vitamin zurückverwandelt werden können. Eine Ausnahme bildet das Sauerstoff-Analoge des Biotins, welches per se für bestimmte Lebewesen ebenso wirksam ist wie das Vitamin. Analoge mit größerer Vitaminwirksamkeit, als sie das Ausgangsvitamin besitzt, sind bei Thiamin und Pyridoxin anzutreffen. Die höhere Leistung ihrer fettlöslichen Analogen beruht jedoch nur auf günstigeren physikalischen Eigenschaften wie leichterer Resorbierbarkeit aus dem Darm und besserem Eindringungsvermögen in die Gewebe. Das biologische Verhalten vitamin-verwandter Substanzen ließ Schlüsse auf die Strukturbedingungen zu, die eine Verbindung mit hoher Vitaminaktivität erfüllen muß. Die folgenden Bausteine bzw. Raumanordnungen müssen bei hochwirksamen Analogen der behandelten Vitamine vorhanden sein:

1. Vitamin A

- a) ein β -Iononring
- b) eine Seitenkette mit mindestens 9 Kohlenstoffatomen, zwei in 9- und 13-Stellung angehängten Methylgruppen und vier in Konjugation zur Doppelbindung des β -Iononringes stehenden konjugierten Doppelbindungen in trans-Konfiguration
- c) eine 15-ständige Hydroxy- oder Aldehydgruppe

2. Vitamin B₁

- a) ein Pyrimidinring, der über eine Methylenbrücke mit einem Thiazolring verbunden ist

- b) eine 2'-ständige Alkylgruppe, deren Größe nicht streng spezifisch ist
- c) eine 4'-ständige unsubstituierte Aminogruppe
- d) eine unsubstituierte Position 6'
- e) eine nicht streng spezifische 4-ständige Alkylgruppe
- f) eine Hydroxygruppe in der Seitenkette des Thiazolrings

3. Vitamin B₆

- a) ein Pyridinring mit 4-ständiger Aldehydgruppe (in bestimmten Organismen auch Hydroxymethylen- bzw. Amino-methylengruppen möglich)
- b) eine 5-ständige Hydroxymethylengruppe
- c) eine 2-ständige Methylgruppe
- d) eine 3-ständige Hydroxygruppe
- e) eine freie Position 6
- f) ein unsubstituiertes Stickstoffatom in Position 1

4. Biotin

- a) ein 2'-Oxo-imidazolidinring
- b) eine Seitenkette aus 4 Kohlenstoffatomen und endständiger Carboxygruppe (bei Ratten auch Hydroxygruppe möglich)
- a) ein Tetrahydrothiophanring oder ein Tetrahydrofuranring bei Tieren (bei Mikroorganismen nicht essentiell)
- d) D-Konfiguration

5. Vitamin C

- a) eine 2,3-Endiol-Gruppierung
- b) eine 4-ständige Hydroxygruppe mit D-Konfiguration
- c) eine 4-ständige Seitenkette mit mindestens zwei Kohlenstoffatomen

- d) eine 5-ständige Hydroxygruppe mit L-Konfiguration
- e) eine 6-ständige Hydroxygruppe

Über die Unentbehrlichkeit des Laktonrings sind in letzter Zeit Zweifel entstanden.

Für das Thema zur vorliegenden Arbeit möchte ich
Herrn Prof. Dr. H.D. C r e m e r meinen herz-
lichen Dank aussprechen.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Dr. W. F e l d -
h e i m für alle Anregungen, die er mir während
meiner Arbeit gab,

und Herrn P. B e h r , dem Betreuer der Instituts-
bibliothek, für seine Hilfe bei der Beschaffung
der Literaturunterlagen.

LEBENS LAUF

Am 26. 9. 1940 wurde ich als Tochter des Exportkaufmanns Heinrich Bödeker und seiner Ehefrau Margarete, geb. Zoller, in Wesel am Rhein geboren.

Dem Wohnsitz meiner Eltern entsprechend besuchte ich von 1947 - 1951 eine Volksschule in Velbert und anschließend das dortige Städtische Neusprachliche Mädchengymnasium, wo ich im März 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester des gleichen Jahres begann ich an der Justus Liebig-Universität in Giessen mit dem Studium der Veterinärmedizin. Am 4. 4. 1962 bestand ich hier die Tierärztliche Vorprüfung und nach fünf klinischen Semestern, von denen ich das Wintersemester 1962/63 an der Tierärztlichen Hochschule in Wien studierte, am 12. 2. 1965 die Tierärztliche Prüfung.

Nach dem Examen leistete ich die vorgeschriebene Praktikantenzeit bei Herrn Dr. E. Brahm in Dortmund ab. Nach Erlangen der Approbation als Tierärztin im Januar 1966 arbeitete ich 4 Monate als Assistentin in einer Großtierpraxis in Schweich an der Mosel.

Seit Januar 1967 bin ich mit einem Kollegen verheiratet. Von Mai 1966 bis März 1967 schrieb ich die vorliegende Dissertation.

FOTO - DRUCK L E N Z 63 GIESSEN
Riegelpfad 32 - Ecke Ludwigstraße

FOTO-DRUCK LENZ, 63 GIESSEN
Riegelpfad 32 / Ecke Ludwigstraße